



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Ingeniería del tejido cardíaco: nuevas
perspectivas para el tratamiento del infarto
de miocardio

Cardiac tissue engineering: new perspectives
for the treatment of myocardial infarction

Autor:

Miguel Ángel García Cob

Directores:

Dr. Ignacio Ochoa Garrido

Dra. Naiara Calvo Galiano

Facultad de Medicina
Departamento de Anatomía e Histología Humanas
Junio 2023

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	2
RESUMEN	4
ABSTRACT.....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
NUEVAS ESTRATEGIAS	14
INGENIERÍA DE TEJIDOS y APLICACIONES EN CARDIOLOGÍA.....	21
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXO: INGENIERÍA DE TEJIDOS EN OTROS TEJIDOS.....	42

FIGURAS

Figura 1. Imágenes de Anatomía e Histología del corazón.....	8
Figura 2. Cambios anatómicos e histológicos del corazón tras el infarto agudo de miocardio...	11
Figura 3. Terapia celular cardíaca con PSC.....	16
Figura 4. Influencia de los exosomas secretados en la terapia celular sobre el tejido cardíaco.	17
Figura 5. Ventajas y desventajas de la Terapia Celular y Acelular	18
Figura 6. Fabricación de parches cardíacos a partir de distintos materiales.....	23
Figura 7. Descelularización de corazón de rata.	26
Figura 8. Esquema del proceso completo de descelularización y repoblación.	27
Figura 9. Distintos tipos de técnicas de impresión 3D.....	31
Figura 10. Ejemplo de parche cardíaco realizado con 3D Bioprinting.....	33

ABREVIATURAS

2D = 2 Dimensiones

3D = 3 Dimensiones

3DBP = 3D Bioprinting

AAS = Ácido Acetilsalicílico

ADN = Ácido Desoxirribonucleico

ARA-II = Antagonistas del Receptor de Angiotensina II

ARN = Ácido Ribonucleico

ATP = Adenosin-Trifosfato

AV = Aurículo-Ventricular

BAV = Bloqueo Aurículo-Ventricular

BMMNC = Células Madre Mononucleares de Médula Ósea Autólogas

CDC = Células Derivadas de la Cardiosfera

cECM = Matriz Extracelular cardíaca

CNT = Nanotubos de Carbono

dECM = Matriz Extracelular descelularizada

ECM = Matriz Extracelular

ECV = Enfermedad Cardiovascular

ESC = Células Madre Embrionarias

ESC = Células Madre Embrionarias

FA = Fibrilación Auricular

FE = Fracción de Eyección

GelMA = Hidrogel de Metacrililo de Gelatina

hCPC = Células Progenitoras Cardíacas humanas neonatales

hdECM = Matriz Extracelular descelularizada derivada del corazón

HUVEC = Células Endoteliales de la Vena Umbilical Humana

IAM = Infarto Agudo de Miocardio

IAMCEST = Infarto Agudo de Miocardio con elevación del segmento ST

IC = Insuficiencia Cardíaca

ICP = Intervención Coronaria Percutánea

IECA = Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina

iPSC = Células Madre Pluripotenciales inducidas

iPSC-CM = Células Cardíacas derivadas de iPSC

MSC = Células Madre Mesenquimales

PAA = Ácido Peracético

PCL = Policaprolactona

PLGA = Ácido Poli(láctico-co-glicólico)

PLLA = Ácido Poli(L-láctico)

PNIPAAm = Poli(N-isopropilacrilamida)

PSC = Células Madre Pluripotenciales

PU = Poliuretanos

PVA = Alcohol Vinílico

RMC = Resonancia Magnética Cardíaca

RMN = Resonancia Magnética Nuclear

synCSC = Células Estromales Cardíacas sintéticas

TC = Tomografía Computarizada

UV = Ultravioleta

VEGF = Factor de crecimiento endotelial vascular

VI = Ventrículo Izquierdo

zECM = Matriz Extracelular de pez Zebra

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares suponen una de las principales causas de muertes en España y a nivel global. Entre ellas, el infarto agudo de miocardio es la más mortal. En caso de que el paciente sobreviva, el miocardio afectado tiene una capacidad regenerativa mínima, lo que hace que en la zona de la lesión se produzca una cicatriz. Este nuevo tejido no se adapta a la funcionalidad del corazón, produciéndose complicaciones a corto y largo plazo, como por ejemplo insuficiencia cardíaca (problemas mecánicos) o arritmias (problemas eléctricos). Para ello no hay tratamiento curativo, a parte del trasplante que tiene multitud de limitaciones.

El uso del tratamiento precoz ha mejorado mucho las secuelas, pero no han desaparecido. Por ello, durante estas dos últimas décadas se ha comenzado a investigar la forma de intentar solucionar o paliar estos problemas. Para ello, se han abordado diversas estrategias.

Inicialmente, se comenzó utilizando células madre para regenerar el tejido cardíaco. Tras diversos estudios, se observó que era el componente secretor de estas lo que conseguía las mejoras clínicas. Sin embargo, la eficacia clínica real era escasa por la baja tasa de retención de células en el tejido, y con el fin de resolver la limitación anterior se apostó por utilizar una matriz que juntara las células y los componentes secretores, implantando todo junto en forma de parche cardíaco sobre la zona afectada. Viendo que se conseguían resultados, pero que no eran los esperados, se comenzaron a desarrollar otras líneas.

Así surgió el uso de matriz extracelular, obtenida de otros órganos, y mediante diversas técnicas se extraían sus células y se dejaban únicamente la matriz extracelular proteica, denominada como andamio o *"scaffold"*. La estrategia era aprovechar la geometría y propiedades de los tejidos naturales evitando el rechazo ejercido por la presencia de células del donante.

Finalmente, el desarrollo de la ingeniería y las impresoras 3D, sirvieron como inspiración para desarrollar biotintas, intentando conseguir así partes funcionales del órgano a estudio.

Los resultados de todos ellos son todavía insuficientes, pero esperanzadores, lo que hace que sean líneas de investigación muy interesantes para continuar su estudio.

Palabras clave: infarto de miocardio, ingeniería de tejidos, terapia celular, parche cardíaco, matriz extracelular descelularizada, andamios, impresiones 3D.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are one of the main causes of death not only in Spain, but also globally. Acute myocardial infarction is the deadliest among all of them. In the event of patient survival, the affected myocardium has minimal regenerative capacity, turning into scar tissue. This new scar tissue is incapable of adapting to the function of the heart which results in short and long term complications such as heart failure (mechanical problems) or arrhythmias (electrical problems). The only curative treatment consists of heart transplant which has many limitations.

The use of early treatment has greatly improved the sequelae, but they have not disappeared. In the past two decades research has been carried out in order to find a solution to the sequelae of myocardial infarction.

Initially, stem cells were used to regenerate cardiac tissue. The use of the secretory component of these cells had promising results however in efficacy was low in the clinical practice since the cells could not hold into the tissue. To try to solve this problem, a new line of investigation opened and it was decided to use a matrix that would bring together the cells and these secretory components, implanting everything together in the form of a cardiac patch placed on the affected area. However, the results of this cardiac patch did not met their expectations, which lead to continuing to search new lines of investigation.

The use of an extracellular matrix came up, which consist on utilizing other organs and carrying out diverse techniques to extract the cells and obtain the foundation of their structure named "scaffolds." The scaffolds are recellularized with stem cells obtained from the same patient. The strategy consists of profiting from the geometry and properties of the natural tissues while avoiding immunocellular phenomenon.

Finally, the development of engineering and 3D printers served as an inspiration to develop bioinks, trying to achieve functional parts of the organ under study.

The results of all these lines of study, although promising, are still not sufficient. This opens the door to continue the research on how to palliate the sequelae and complications of heart attack.

Keywords: myocardial infarction, tissue engineering, cell therapy, cardiac patch, extracellular matrix decellularized, scaffolds, 3D bioprinting

MATERIAL Y MÉTODOS

El objetivo principal de este trabajo ha sido realizar una recopilación sobre el estado del arte ("state-of-the-art") de las últimas líneas de investigación en ingeniería de tejidos aplicadas al corazón, concretamente para tratar el infarto agudo de miocardio y sus complicaciones posteriores.

Para ello, se han revisado las bases de datos "PubMed" y "Google Scholar". En términos generales, se ha filtrado por "Reviews" y "Systematic reviews", utilizando las publicaciones en inglés y de los últimos 5 años, para intentar conseguir la información de mayor evidencia y lo más actualizada posible, ya que es un campo en el que se ha evolucionado en gran medida en los últimos años. Una vez realizada la búsqueda, se intentaban escoger los documentos más citados, o en su defecto los más recientes. En cuanto a los artículos de investigación, se han empleado los que se mencionaban en las reviews utilizadas, contrastando la información ofrecida por estas con el "abstract", resultados y conclusiones de los artículos originales. En los artículos clínicos cuyos resultados no han sido publicados la búsqueda sí fue individualizada.

Dado que el objetivo principal era conseguir una amplia revisión del tema, las palabras utilizadas para obtener la información de cada apartado han sido diferentes. Como palabras clave comunes se utilizaron "heart", "cardiac tissue" o "cardiac tissue engineering". En cada epígrafe se individualizaron el resto de los términos. Por ejemplo, en la búsqueda de la impresión 3D se utilizó "cardiac tissue" + "3D bioprinting". Otro ejemplo, en terapias celulares: "cell therapy" + "heart".

INTRODUCCIÓN

1. PROBLEMA

La enfermedad cardiovascular (ECV) sigue siendo la principal causa de muerte en todo el mundo. En el 2021, el 26,4% de las defunciones en nuestro país se debieron a enfermedades del sistema circulatorio, siendo la primera causa de muerte. Representa la segunda causa de muerte en varones, sólo superada por el cáncer, y la primera causa de muerte en mujeres. En este grupo incluiríamos las enfermedades isquémicas del corazón (que encabeza la lista, representando más de un 6% de las muertes totales), enfermedad cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, etc.¹

Como hemos visto, las enfermedades isquémicas del corazón representan una importante causa de muerte en nuestro país, y sobre todo su mayor exponente: el infarto agudo de miocardio (IAM). En este, se produce una pérdida del flujo sanguíneo cardíaco, que conlleva a la pérdida de cardiomiocitos. Al ser limitada la capacidad de regeneración, la lesión se remplazará por una cicatriz fibrótica, perdiendo sus cualidades eléctricas y contráctiles, lo que llevará a un proceso de remodelación cardíaca. Esto acabará causando la mayoría de las veces una dilatación ventricular, y esto a su vez una insuficiencia cardíaca. Por el momento, el único tratamiento definitivo para la insuficiencia cardíaca terminal es el trasplante.

Para entender mejor los procesos patológicos que ocurren en el corazón y los tratamientos actuales y los nuevos, vamos a hacer un breve repaso que sirva como introducción sobre la histología y fisiología de este órgano vital.

2. MORFOFISIOLOGÍA DEL CORAZÓN

Anatómicamente, el corazón está formado por cuatro cavidades, dos aurículas y dos ventrículos, separadas por dos válvulas, que conectan aurículas con ventrículos y permiten el paso de sangre de las primeras hacia los segundos. Está situado en el tórax, concretamente en el mediastino medio, quedando su vértice orientado hacia el lado izquierdo, de tal forma que el ventrículo derecho es anterior, situándose inmediatamente posterior al esternón, y el ventrículo izquierdo es posterior. La aurícula izquierda queda colindante al esófago, y la aurícula derecha está apoyada sobre el diafragma. El paso del esófago, los vasos (aorta, venas ácigos y hemiácigos, conducto torácico) y parte del sistema nervioso vegetativo se sitúa entre el corazón y la columna torácica. A ambos lados, se sitúan los pulmones, sobre los que deja una impronta, que es bastante más acusada en el izquierdo.

El corazón está compuesto por 3 capas:

- Endocardio: es la capa más interna. Es la encargada de revestir las cavidades cardíacas y formar las valvas y senos de las válvulas del corazón. Está formada por una capa de células endoteliales y tejido conectivo subendotelial, una capa intermedia de tejido conectivo y células de músculo liso y una última capa de tejido conectivo, llamada capa subendocárdica, que está en contacto con el miocardio. Esta última capa es importante, porque en ella se encuentra el sistema de excito-conducción cardíaco. Una afectación en esta capa provoca disfunciones eléctricas que conllevan a arritmias y otros fallos eléctricos del corazón.
- Miocardio: es la capa intermedia. Es la más gruesa de las tres y la encargada de realizar la función principal del corazón: el bombeo. Está formado por fibras de músculo cardíaco. El tejido muscular cardíaco es estriado, al igual que el tejido muscular esquelético, teniendo los mismos tipos y organización de filamentos contráctiles. Sin embargo, en este el núcleo de la célula muscular está en el centro de la célula, lo que

permite distinguirlas de las fibras esqueléticas, donde son subsarcolémicos. El miocardio está compuesto por fibras musculares rodeadas de tejido conjuntivo, por el que discurrirán los vasos y nervios.

- La función principal de la célula muscular (contracción) se lleva a cabo gracias a la interacción entre los miofilamentos presentes en la célula. Existen dos tipos, los filamentos finos, compuestos principalmente por actina fibrilar (actina F) y filamentos gruesos, compuestos por miosina II. Se llama tejido muscular estriado debido a que la disposición intracitoplasmática de estos miofilamentos (sarcómera) confiere a las células una imagen de estrías vistas al microscopio. El deslizamiento de la actina sobre la miosina producirá la contracción. Además, también encontramos los discos intercalares, que son uniones celulares que permiten la continuidad iónica (eléctrica) y mecánica entre células contiguas. Esta unión eléctrica y mecánica de las células es uno de los principales factores limitantes para las terapias regenerativas, ya que no sólo hay que añadir las células sustitutas de las dañadas, sino sincronizarlas con el resto del tejido circundante.

Por otro lado, el miocardio no es igual en todo el corazón. La musculatura auricular se compone de una capa superficial y una profunda. La capa superficial se extiende por ambas aurículas, a diferencia de la capa profunda, que cada aurícula tiene la suya. En los ventrículos también diferenciamos dos capas musculares, una capa subepicárdica y una subendocárdica. En el vértice de los ventrículos la capa externa pasa hacia las capas más profundas formando un vórtice. El ventrículo derecho es más débil que el izquierdo, al ser un sistema de bajas presiones.

- Epicardio o lámina visceral del pericardio seroso: es la capa más externa, la más superficial. Está compuesto de una única capa de células mesoteliales y de tejido conjuntivo y adiposo subyacente. Por esta capa transcurren los vasos y nervios que irrigan e inervan al corazón, protegidos por tejido adiposo que los rodea. Entre el pericardio parietal y el epicardio existe un espacio virtual, la cavidad pericárdica, que contiene 15-50mL de líquido seroso, permitiendo el deslizamiento de las dos capas.

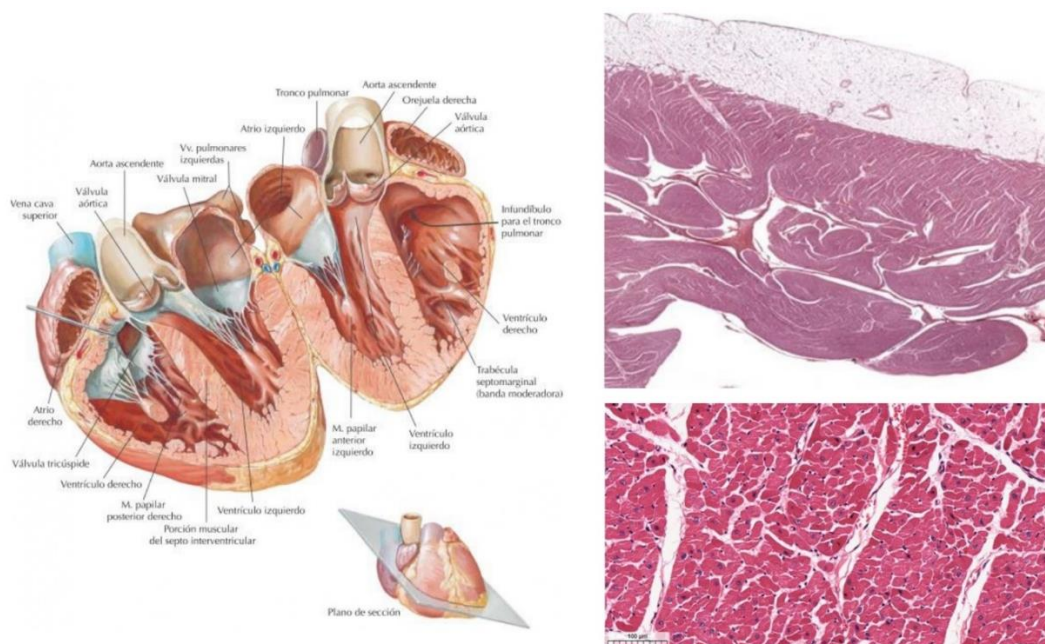


Figura 1. Imágenes de Anatomía e Histología del corazón ^{2,3,4}

En cuanto a la vascularización, el corazón está irrigado por las arterias coronarias, que suministran sangre oxigenada a un importante sistema capilar encargado de nutrir a todas las células cardíacas. Estas arterias surgen de la aorta, inmediatamente después de la salida de la válvula aórtica. Existen dos coronarias:

- La arteria coronaria izquierda, un poco más grande, que se divide en la rama circunfleja, que rodea el corazón por el seno coronario izquierdo para irrigar la pared cardíaca posterior, y la rama interventricular anterior, que discurre por el surco interventricular anterior dirección al vértice cardíaco.
- La arteria coronaria derecha discurre por el surco coronario derecho para dar lugar a la rama interventricular posterior.

Ambas ramas darán posteriormente numerosas ramificaciones. Puede existir codominancia, dominancia izquierda o dominancia derecha, en función de qué arteria irrigue principalmente la pared posterior cardíaca.

Las venas discurren paralelamente a las arterias y se unen en el seno coronario, que desembocará en la aurícula derecha. Las venas más pequeñas desembocarán directamente la aurícula derecha, sin llegar al seno coronario.

Una característica diferencial del corazón con el resto de órganos, es que es capaz de crear estímulos eléctricos de forma independiente y conducirlos al resto del miocardio, aún en situaciones de denervación (como es el caso de los trasplantes). El estímulo se crea en el Nodo Sinusal y se transmite de la siguiente forma:

Nodo sinusal → Nodo Aurículo-Ventricular → Haz de His → Ramos ventriculares del Haz de His (izquierdo y derecho) → Fibras de Purkinje (ramas terminales del haz de His, situadas en el endotelio de ambos ventrículos).

Clásicamente, la acción mecánica cardíaca se ha dividido en dos fases: sístole y diástole, pero si tenemos en cuenta la función ventricular podríamos dividirlo en cuatro fases:

- En la sístole encontramos la fase de contracción isovolumétrica (las válvulas se encuentran cerradas y el ventrículo se contrae y se tensa alrededor de la columna de sangre que contiene) y fase de expulsión (las válvulas aurículo-ventriculares (AV) siguen cerradas, evitando el retorno de sangre a la aurícula, y las válvulas arteriales se abren permitiendo la salida de la sangre a aorta y arterias pulmonares).
- En la diástole veremos la fase de relajación isovolumétrica (el ventrículo se relaja, pero todas las válvulas permanecen cerradas) y la fase de llenado (las válvulas arteriales siguen cerradas, pero las AV se abren permitiendo el llenado de los ventrículos).

Gracias a lo expuesto anteriormente, el corazón es el encargado de mantener el flujo sanguíneo a nivel sistémico y por supuesto, también a nivel cardíaco. La sangre sistémica o sangre venosa llega a la aurícula derecha a través de las venas cavas, que atravesará la válvula tricúspide para ser enviada desde el ventrículo derecho a las arterias pulmonares. De vuelta desde los pulmones, a través de las venas pulmonares, la sangre ya “arterializada” llegará a la aurícula izquierda, pasará la válvula mitral y llegará al ventrículo izquierdo, quien será el encargado de bombear la sangre de nuevo al circuito sistémico a través de la aorta.^{5,6}

3. INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO (IAM)

Se produce por una oclusión completa de la arteria encargada del riego de la zona afectada. Lo más frecuente es que se produzca por el desprendimiento de una placa arteriosclerótica que

forme un trombo que ocluya la luz vascular de una o más ramas. En su patogénesis, encontramos numerosos factores de riesgo, como la hipertensión arterial, el sobrepeso, el sedentarismo, las dislipemias (sobre todo el aumento del colesterol LDL y la disminución del colesterol HDL), el tabaquismo, la Diabetes Mellitus y la predisposición genética. Todos contribuyen al desarrollo de la arteriosclerosis y la placa de ateroma.

Solamente 30 minutos de isquemia son necesarios para observar muerte celular y necrosis tisular. Las primeras capas en sufrir daños serán las más alejadas de la luz del vaso, es decir, el subendocardio, debido a que es la zona que más oxígeno consume y que antes notará su déficit. Con la ruptura de las células, se liberarán al torrente sanguíneo enzimas específicas (troponinas I y troponinas T), que permitirán el diagnóstico. Se elevarán entre 3 y 12 horas después del infarto. La zona infartada será reparada por los fibroblastos formando tejido conectivo denso. Como consecuencia, la función cardíaca, tanto mecánica como eléctrica, se verá interrumpida.

De forma fisiológica, las células al ser privadas de oxígeno utilizan la glucólisis anaerobia para obtener energía, lo que causa un déficit de ATP. Al mismo tiempo, el aumento de residuos metabólicos ayuda a crear un bloqueo en la formación glucolítica del ATP, causando un daño irreversible en las membranas celulares, mitocondriales y retículo sarcoplasmáticas. Además, encontraremos una sobrecarga iónica de calcio que activará las fosfolipasas de la membrana, activando la cascada inflamatoria. De este modo, granulocitos y macrófagos acudirán al tejido necrótico para formar tejido de granulación. La sustitución del tejido necrótico por tejido cicatricial habrá concluido a las 6 semanas.

El IAM se define como la presencia de daño miocárdico (elevación de troponinas por encima del límite superior de referencia del percentil 99) agudo junto con la evidencia clínica de isquemia miocárdica aguda y al menos 1 de las siguientes:⁷

- Síntomas de isquemia miocárdica
- Nuevos cambios isquémicos en el electrocardiograma
- Presencia de ondas Q patológicas
- Detección de pérdida de miocardio viable mediante imagen o nuevas anomalías regionales de la motilidad de la pared compatibles con una etiología isquémica
- Identificación de un trombo coronario por angiografía o autopsia

Clásicamente se ha pensado que las células cardíacas maduras no eran capaces de dividirse, y que por lo tanto aquellas células dañadas no podían ser reemplazadas por células musculares nuevas. Estudios recientes de corazones extraídos en personas que recibieron trasplantes permitieron detectar núcleos en proceso de mitosis. Aunque la proporción era escasa (0,1 %), este descubrimiento abre posibles líneas de investigación futuras, en búsqueda de nuevos métodos que induzcan la regeneración del músculo cardíaco⁶.

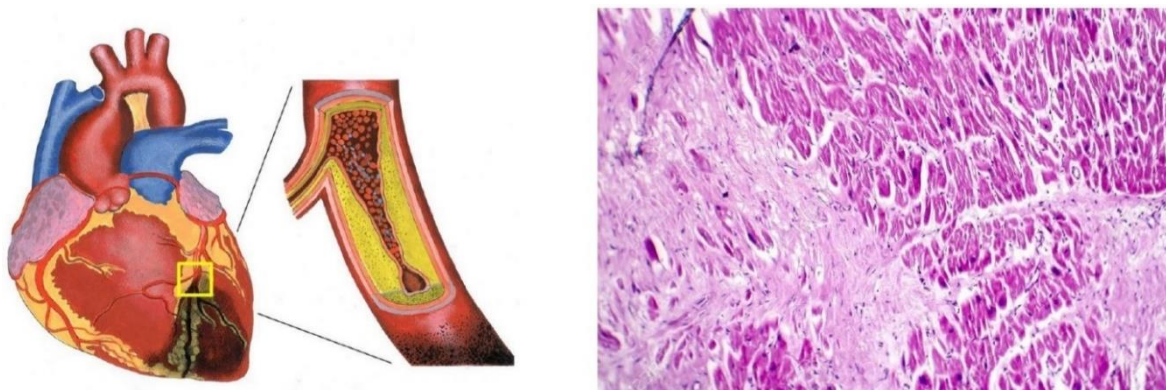


Figura 2. Cambios anatómicos e histológicos del corazón tras el infarto agudo de miocardio ^{8,9}

4. MANEJO CLÍNICO ACTUAL DEL IAM

El manejo clínico actual y las complicaciones han sido obtenidas de la Guía de la Sociedad Europea de Cardiología de 2017.¹⁰

a) Manejo agudo

El manejo agudo se basa en la fibrinólisis y en la intervención coronaria percutánea (ICP) primaria. La ICP consiste en introducir un catéter a través de la arteria radial o femoral y, mediante rayos x, guiarlo hasta las arterias coronarias. Una vez allí, a través de la inyección de contraste, se localizará y tratará la arteria/s responsables, para restablecer el flujo sanguíneo. Esta técnica es el tratamiento ideal en los pacientes con IAM con Elevación del segmento ST (IAMCEST) con menos de 12 horas de evolución de los síntomas, siempre que se pueda hacer en los primeros 120 minutos tras el diagnóstico. Es superior a la fibrinólisis siempre y cuando sea realizada en los tiempos establecidos. Si la ICP no pudiera realizarse, es entonces cuando se indica la fibrinólisis en las primeras 12 horas tras el inicio de los síntomas.

Dentro de las estrategias de ICP primaria, es el implante de stents la técnica que se ha visto superior al resto, y por tanto de elección. Preferiblemente se utilizan stents farmacoactivos a stents metálicos, ya que reducen el riesgo de repetición del episodio.

En los infartos multivaso, habrá que tratar siempre la arteria responsable, dejándose para posteriores intervenciones aquellas arterias con lesiones pero que no son las causantes del cuadro agudo.

Los dos predictores independientes de mortalidad a largo plazo e insuficiencia cardíaca (IC) en los supervivientes son el tamaño final del infarto y la oclusión microvascular, que hace referencia a la incorrecta perfusión del músculo cardíaco que existe tras la apertura de la oclusión coronaria. Por el momento, no existe ningún tratamiento que haya resultado para esto.

b) Manejo a largo plazo

La primera parte del tratamiento a largo plazo recae sobre las intervenciones en el estilo de vida y el control y disminución de los factores de riesgo cardiovasculares. Para ello, se pauta abandono tabáquico y alcohólico, control de peso y tensión arterial y una buena adherencia al tratamiento médico. Además, la rehabilitación cardíaca y el retorno a la vida profesional, un buen indicador de recuperación, mejoran el pronóstico.

La segunda parte recae sobre el tratamiento médico; el paciente deberá tomarlo de por vida:

- Tratamiento antitrombótico. Se recomienda la antiagregación indefinida con ácido acetilsalicílico (AAS) de por vida. Para los pacientes que fueron tratados con stent, se recomienda antiagregación doble con AAS + un inhibidor del P2Y₁₂ durante un año (preferiblemente Ticagrelor o Prasugrel a Clopidogrel).
- Bloqueantes Beta-adrenérgicos. Reducen la mortalidad. Se recomienda su uso en todos los pacientes, sobre todo si tienen disfunción sistólica e insuficiencia cardíaca.
- Hipolipemiantes. Se recomienda la toma de estatinas a todos los pacientes con antecedentes de síndrome coronario.
- Nitratos. No se deben utilizar de forma sistemática. Pueden ser útiles en fases agudas para la hipertensión o la insuficiencia cardíaca.
- Antagonistas del calcio. Se plantean como alternativa a los bloqueantes beta-adrenérgicos en pacientes con enfermedad respiratoria obstructiva, siempre que no exista insuficiencia cardíaca ni reducción de la fracción de eyección. No se recomienda su uso de forma sistemática tras IAMCEST, y están contraindicados en fase aguda.
- Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) o Antagonistas del Receptor de Angiotensina II (ARA II). Reducen la mortalidad. El uso de IECA está recomendado en todos los pacientes con disfunción sistólica del ventrículo izquierdo, insuficiencia cardíaca, hipertensión o diabetes, y en todo paciente con IAMCEST. En caso de mala tolerancia o efectos adversos del IECA (habitualmente tos o angioedema) se utilizarán ARA-II en su lugar.
- Antagonistas del receptor mineralocorticoide. Reducen la mortalidad. Están recomendados en disfunción sistólica izquierda con fracción de eyección izquierda inferior al 40% e insuficiencia cardíaca tras IAMCEST, ya que previenen el remodelado cardíaco.

c) Complicaciones

Disfunción miocárdica. La disfunción del ventrículo izquierdo es la consecuencia más frecuente del IAMCEST. Es predictor independiente de la mortalidad. Es consecuencia directa del daño miocárdico. Puede empeorar en casos de arritmias, disfunciones valvulares o complicaciones mecánicas. También puede haber aneurismas, formación de trombos o insuficiencia mitral funcional, por dilataciones del anillo auriculoventricular o desplazamiento de los músculos papilares, entre otras causas. También puede existir disfunción del ventrículo derecho, que se acompañan más frecuentemente de arritmias ventriculares, bloqueos de conducción y bajo gasto cardíaco o shock.

Insuficiencia cardíaca. En relación directa con lo anterior, es la complicación más frecuente y uno de los factores pronósticos más importantes en el IAMCEST. La disfunción sistólica izquierda es el origen más frecuente. La mortalidad se asocia a la disfunción sistólica izquierda inicial y al grado de la insuficiencia mitral.

Arritmias. También son factores pronósticos. Son frecuentes en las primeras horas post-IAM. La incidencia de muerte cardíaca es alta, causa sobre todo de taquicardias y fibrilaciones ventriculares. El tratamiento de reperfusión disminuye su riesgo.

- Las arritmias supraventriculares son las más frecuentes, afectando a 1/5 de los IAMCEST. La presencia de fibrilación auricular (FA) aumenta los riesgos de comorbilidades y complicaciones.
- Las arritmias ventriculares son consecuencia directa de la isquemia. Se recomienda el uso de bloqueantes beta-adrenérgicos siempre que se pueda. En este caso sí que es necesario la cardioversión eléctrica o la desfibrilación, incluso considerar la

administración de amiodarona. En presencia de taquicardia o fibrilación ventricular pasada la fase aguda, habría que considerar el implante de un DAI como prevención secundaria de muerte súbita.

- La bradicardia sinusal y el bloqueo aurículo-ventricular (BAV) es frecuente en las primeras horas, más si el infarto es inferior. En casos de BAV de segundo grado tipo II y tipo III, estaría indicado el implante de marcapasos.

Complicaciones mecánicas. Desde la ICP primaria, ha disminuido considerablemente su incidencia. Todas ellas son potencialmente mortales, por lo que es fundamental su diagnóstico y tratamiento precoz.

- Rotura de la pared libre. Es poco frecuente, se presenta sobre todo cuando hay infarto transmural. Se desarrolla hemopericardio y taponamiento cardíaco que llevan al shock súbito, causando la muerte. Aparece durante la primera semana.
- Rotura del septo interventricular. Suele presentarse con rápido deterioro clínico, IC aguda o shock cardiogénico, durante las primeras 24h o los primeros días.
- Rotura del músculo papilar. Se produce una insuficiencia mitral aguda que aparece entre el segundo y el séptimo día post-IAM. Se presenta como un deterioro hemodinámico súbito con disnea aguda, edema pulmonar o shock cardiogénico.

Pericarditis y derrame pericárdico epistenocárdico. Pueden aparecer precozmente o tras 1 o 2 semanas. Probablemente sea de causa inmune, debido al daño cardíaco. El tratamiento es el mismo que el habitual.

NUEVAS ESTRATEGIAS

La alternativa al tratamiento médico expuesto anteriormente es el trasplante cardíaco. Sin embargo, este presenta varios inconvenientes como la necesidad de inmunosupresión de por vida, las complicaciones quirúrgicas de la operación o la complejidad de la misma. Pero sin duda, el factor limitante más importante es la escasez de corazones humanos. Por ello, existen unas indicaciones generales para el trasplante que apenas han cambiado desde 2006, y que son: ¹¹

- Compromiso hemodinámico por insuficiencia cardíaca.
- Shock cardiogénico refractario.
- Dependencia de fármacos inotrópicos para mantener una adecuada perfusión.
- Volumen de oxígeno máximo inferior a 10mL/kg/min.
- Isquemia miocárdica severa con limitación de la actividad diaria e imposibilidad de someterse a cirugía de revascularización o angioplastia percutánea.
- Arritmias ventriculares sintomáticas recurrentes refractarias a todos los tratamientos.

Debido a esto, se comenzó a investigar en otras formas de regenerar el tejido cardíaco, mejorar la función del corazón dañado o incluso se intentaron recrear nuevos corazones artificiales. A continuación, se expondrán algunas de las líneas de investigación en las que más trabajos se han realizado durante los últimos años.

TERAPIA CELULAR

Como hemos comentado anteriormente, el IAM produce la pérdida de millones de cardiomiocitos, y la capacidad de regeneración de estos es bastante escasa, por lo que finalmente se produce la formación de tejido cicatricial. Es este proceso de remodelado lo que acabará produciendo la dilatación de las cavidades y la insuficiencia cardíaca. Sin embargo, no sólo la extensión del infarto se correlaciona con la remodelación posterior; sino que también están implicadas la respuesta inmunitaria a nivel sistémico y la respuesta inflamatoria a nivel cardíaco. Concretamente, es la respuesta inflamatoria la encargada de determinar el grado de recuperación a nivel cardíaco. Esta se encarga de eliminar las células necrosadas y de emitir señales moleculares indispensables para su reparación, pero una respuesta excesiva y/o prolongada en el tiempo aumentan el daño que se ha producido, ya que las vías de señalización entre la inflamación y la señalización fibrogénica están muy relacionadas. Las principales células implicadas en estos procesos de inflamación que causan dichos efectos deletéreos son los neutrófilos y los macrófagos¹².

Conociendo esto, una estrategia terapéutica podría ser la modulación de la respuesta inflamatoria post-IAM. Se ha demostrado que la modulación de la inflamación en las fases tempranas ayuda a reducir la lesión y la necrosis de los cardiomiocitos, y que la disminución de las señalizaciones proinflamatorias reduce la apoptosis durante la fase de remodelación cardíaca, reduciendo así la cicatrización.

Pese a que estas estrategias inmunomoduladoras se han visto muy positivas, el uso de inmunosupresores no mejora la función cardíaca^{13,14} y el uso de corticoides y AINEs asocian un incremento de la mortalidad y del riesgo de infarto recurrente^{15,16}.

Pero además del control de la respuesta inflamatoria, para reparar el tejido afectado es necesario un nuevo tejido funcional. Aunque se han descrito evidencias de que la capacidad regenerativa en el miocardio humano existe, parece que esta es mínima. Además, no existe tampoco una clara evidencia para la identificación de la célula madre cardíaca en mamíferos. Pese a ello, estas estrategias han sido ampliamente estudiadas debido al gran potencial de diferenciación que

tienen las células madre de otras líneas celulares. Con su uso, a priori, se conseguiría reponer el tejido cardíaco y conseguir una estrategia inmunomoduladora para la reparación del miocardio dañado. Sin embargo, algunos estudios sugieren que las mejoras funcionales están relacionadas con las funciones paracrinas e inmunomoduladoras de las células madre, más que por la reposición celular.

Las células madre pluripotenciales inducidas (iPSC) fueron las que se estudiaron primero y sobre las que más información se tiene. Además, comentaremos las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (MSC) y las células derivadas de la cardiosfera (CDC), que son las dos siguientes más usadas, pero hay muchas más líneas celulares que han sido objeto de estudio.

Células Madre Pluripotenciales inducidas (iPSC)

Las iPSC surgen de la reprogramación de fibroblastos humanos y de ratón a un estado de pluripotencialidad similar al que tienen las células madre embrionarias (ESC), mediante la expresión forzada de algunos genes como Oct3/Oct4 o Sox2, con la ventaja de que estas no tienen los inconvenientes éticos de las ESC, ya que pueden inducirse a partir de fibroblastos autógenos del paciente. Tanto las iPSC como las ESC pueden diferenciarse en cualquier tipo de célula del cuerpo.

Con el descubrimiento de las iPSC se empezó a investigar en la regeneración de tejido cardíaco. Se vio que en cultivo se podía inducir a las iPSC para producir cardiomiocitos de alta pureza en 14 días. En ratones, se transplantaron células cardíacas derivadas de iPSC (iPSC-CM) para el tratamiento del IAM, que mejoraron la función ventricular y redujeron la remodelación patológica^{17,18}.

En otro modelo de primates no humanos con daño cardíaco, la inyección intramiocárdica de iPSC-CM mejoraron la función cardíaca, y tuvieron un buen acoplamiento eléctrico con las células del huésped. Sin embargo, se detectaron un incremento de arritmias cardíacas¹⁹. Además, se vio que la tasa de injerto no era muy alta.

Para paliar este problema, se pensó en fabricar un parche de músculo cardíaco, que combinaba varias líneas de células derivadas de iPSC, como células endoteliales y de músculo liso, para mejorar la funcionalidad. Se vio que semanas después, hubo buena integración en el miocardio del huésped y se generó un sarcómero organizado. Mediante este sistema de parche epicárdico, se logró la regeneración sin la inducción de arritmias²⁰.

También se diseñaron parches de músculo cardíaco humano con dimensiones clínicamente relevantes (4 cm × 2 cm × 1,25 mm) para tratar el IAM en cerdos, que consiguieron mejorar la función cardíaca y reducir el tamaño del infarto sin aumentar la aparición de arritmias²¹.

Por todo ello, se ha propuesto este método como una forma eficiente de reparación miocárdica, aunque algunos beneficios se han atribuido principalmente a los efectos paracrinas, más que a la sustitución de la cicatriz²².

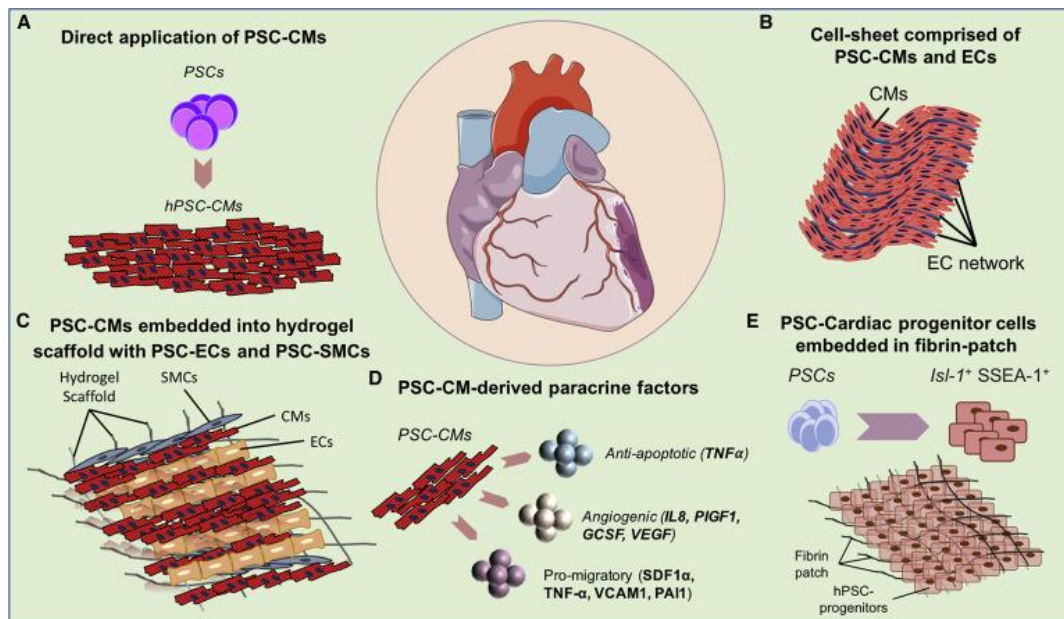


Figura 3. Terapia celular cardíaca con PSC²³.

Células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (MSC)

Las MSC son un tipo de células estromales que se obtienen de distintos tejidos adultos, como el tejido adiposo, tejido conectivo, cordón umbilical o médula ósea. Se puede conseguir su diferenciación in vitro a células de distintas líneas como osteoblastos, adipocitos o condrocitos, entre otras.

Dentro de los distintos tipos de MSC, las células madre mononucleares de médula ósea autólogas (BMMNC) son el tipo de célula más utilizado clínicamente para la cardiopatía isquémica.

Se comenzaron a utilizar sobre el tejido cardíaco inicialmente por su amplia capacidad de diferenciación, tras lo que se vio que los MSC no podían formar cardiomiocitos después de la implantación, pero que tenían una gran potencia paracrina con efectos muy positivos, influyendo así sobre factores de crecimiento, citocinas, etc. que intervenían sobre los procesos de cicatrización²⁴.

Además, son capaces de regular la respuesta inmune: pueden cambiar la función y los fenotipos de los leucocitos a través del contacto celular directo o de factores solubles. También influyen sobre la actividad de los neutrófilos, la polarización de los macrófagos y la proliferación de los linfocitos T.

En cuanto a los diversos estudios que hay sobre este tipo de células, en varios de ellos en estadios preclínicos se observó una regeneración vascular y una buena resolución de la inflamación, además de una mejoría de la fracción de eyección^{25,26}. En ensayos clínicos se vieron mejorías de la perfusión y de la función cardíaca tras la inyección intravenosa de MSC procedentes de cordón umbilical humano^{27,28} y de médula ósea²⁵ para el tratamiento de IAM.

Células derivadas de la cardiosfera (CDC)

Las CDC hacen referencia a poblaciones de células madre derivadas del corazón, similares a las MSC. Mediante biopsias de tejido cardíaco y su posterior cultivo, conseguimos grupos multicelulares esféricos llamados cardiosferas (CDC).

Al igual que en el caso anterior, se presupuso que las CDC ayudarían a la reparación cardíaca mediante la diferenciación celular en células cardíacas. Sin embargo, se vio que esto no era así, que su diferenciación hacia los cardiomiocitos era limitada, y que la mayor parte de sus efectos positivos era gracias a los efectos paracrin. Al igual que las MSC, tienen efectos inmunomoduladores, disminuyendo la proliferación y activación de linfocitos y la polarización de macrófagos, entre otros.

Los implantes intramiocárdicos de CDC demostraron atenuar la remodelación cardíaca y conservar la función de eyección^{29,30}. En el estudio CADUCEUS, el primer ensayo clínico que se realizó, se demostró la seguridad y eficacia de la infusión intracoronaria de CDC autólogas. Se observó una mejora del tamaño de la cicatriz, de la masa cardíaca viable y de la contractilidad regional, mejorando la función regional de la zona afectada^{31,32}.

Efectos paracrin

Aunque las expectativas de la terapia celular era reponer las células perdidas, la tasa de injerto es muy baja debido al rechazo inmunológico. Lo que sí ha destacado han sido las funciones paracrin que realizan estas células madre. Mediante la secreción de distintas sustancias, consiguen incrementar la angiogénesis, modular la inflamación, apoptosis y fibrosis, a la vez que frenar el remodelado, entre otras funciones.¹²

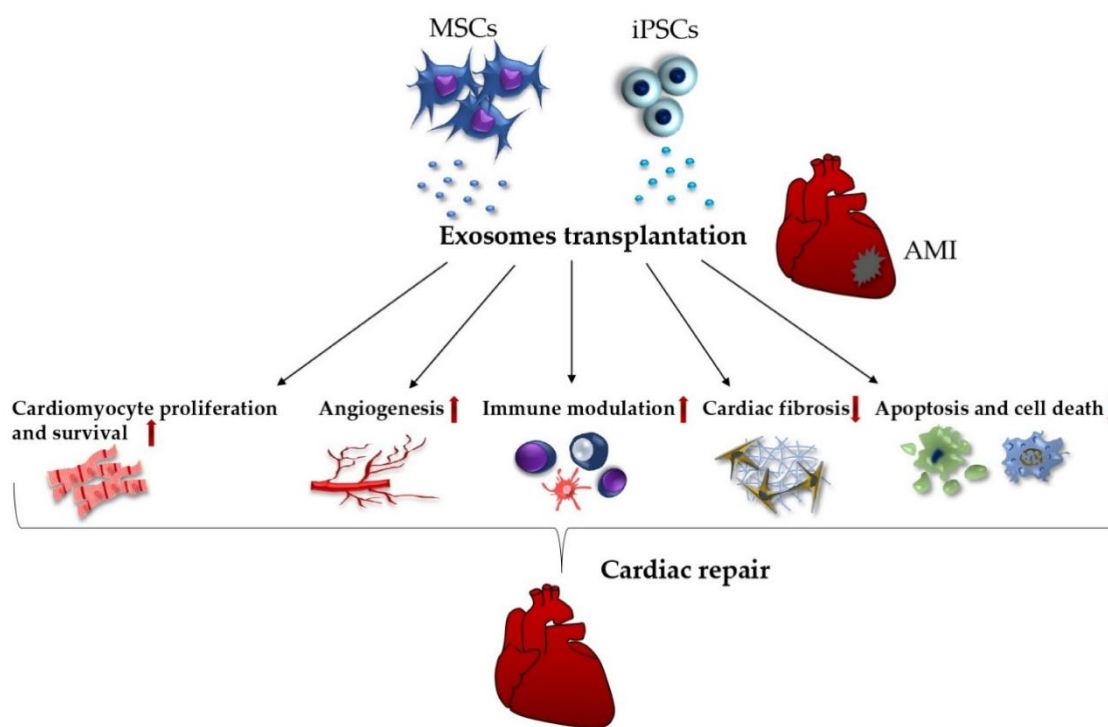


Figura 4. Influencia de los exosomas secretados en la terapia celular sobre el tejido cardíaco³³.

TERAPIA ACELULAR

La pérdida de las células inyectadas y del injerto causada por el rechazo inmunitario postulan la terapia acelular como una alternativa. En esta, se utilizan solamente los factores paracrin, que han sido los que han demostrado suponer mejoras significativas. Estos factores paracrin secretados o secretoma pueden recolectarse y utilizarse como terapia acelular. Dentro de estas moléculas activas encontramos exosomas, microARN, factores de crecimiento y vesículas extracelulares, entre otras. Esta terapia sin células madre supone una alternativa clínica factible, capaz de reducir los inconvenientes del uso de células, como la respuesta inmunitaria.

Pese a que el papel de estos productos paracrinos ha sido estudiado, lo más probable es que no sean suficientes como para satisfacer las necesidades médicas que se buscan en cuanto a la reparación muscular cardíaca. Por tanto, es más probable que se desarrolle como un tipo de fármaco capaz de prevenir o retrasar la progresión, y no como un tratamiento que lo solucione¹².

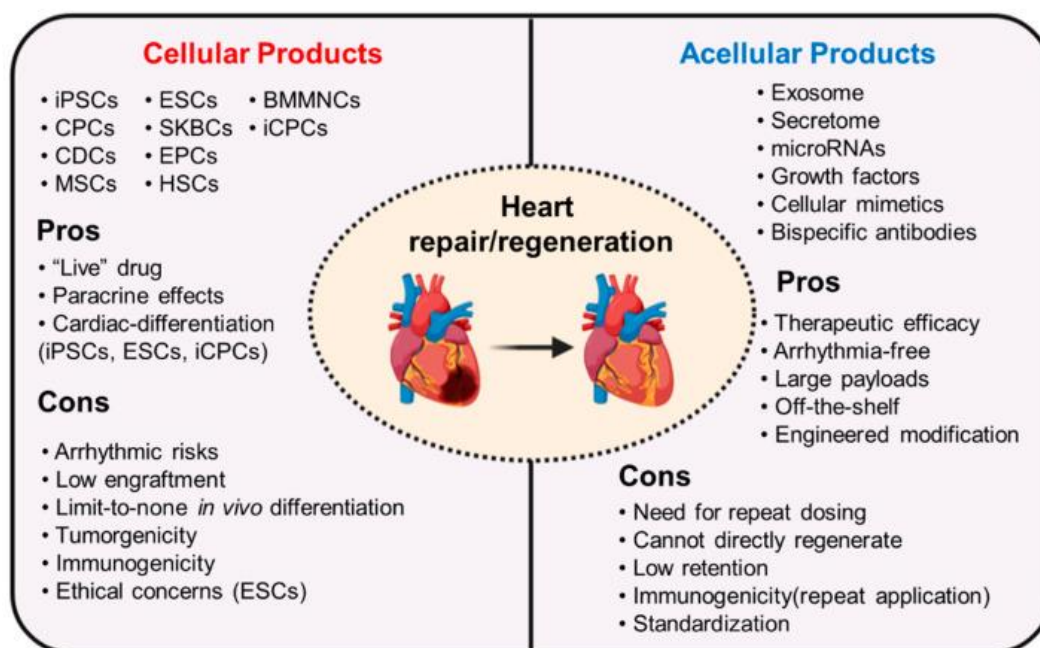


Figura 5. Ventajas y desventajas de la Terapia Celular y Acelular¹².

HIDROGELES

Otra alternativa que se ha utilizado en la ingeniería de tejidos son los biomateriales. Estos biomateriales pueden formarse con materiales naturales, sintéticos o mezcla de ambos. Además, existen múltiples presentaciones, siendo la principal en forma de hidrogeles inyectables, utilizado en múltiples aplicaciones en ingeniería de tejidos cardíacos. Estos son tan atractivos porque se puede lograr su inclusión en el miocardio mediante técnicas mínimamente invasivas, como un catéter³⁴.

Un punto positivo a su favor es que los hidrogeles inyectables pueden ensamblarse fácilmente en una red polimérica tridimensional con alto contenido en agua. Funcionan con buenos resultados en los sistemas biológicos, debido a una alta permeabilidad, biocompatibilidad y fácil degradación. Además, son perfectos para el ambiente cardíaco, ya que pueden modificar sus propiedades químicas, físicas y eléctricas, adaptándose a las propiedades conductoras del corazón. También puede adaptar su rigidez a las contracciones cardíacas, una característica de este órgano que supone uno de los principales inconvenientes en su reparación. Además, pueden utilizarse como medio de secreción de factores de crecimiento, fármacos, células, genes, métodos virales... Lo que permite su administración de forma controlada en el lugar deseado, consiguiendo una terapia localizada eficiente.

Existen dos estudios clínicos en los que, a priori, el uso de hidrogeles se consideró bien tolerado y supusieron mejoras clínicas, con preservación de la función cardíaca y disminución de los síntomas. Sin embargo, en uno de ellos se observó un incremento de la mortalidad en los primeros 30 días tras la inyección, algo que no ocurrió en el grupo control^{35,36}.

En cuanto al material de estos hidrogeles, podríamos clasificarlos en materiales naturales o materiales sintéticos.

Polímeros naturales

Los materiales naturales al conservar sus propiedades físico-químicas y biológicas, presentan una gran compatibilidad con el huésped. Se utilizan materiales como el colágeno, la fibrina o el ácido hialurónico, que son proteínas/polisacáridos que permiten la absorción de agua, lo que permite la fácil difusión de nutrientes y desechos, mejorando la supervivencia y motilidad celular. Por contrapartida, son materiales que se degradan rápido, presentan propiedades mecánicas y eléctricas insuficientes y no tienen propiedades antioxidantes.

Algunos ejemplos de los materiales naturales más utilizados son:

- Polímeros de colágeno
- Polímeros de fibrina
- Matriz extracelular descelularizada
- Quitosanos
- Alginato

Por sus propiedades variables, riesgo inmunogénico y rigidez débil son inadecuados para aplicaciones clínicas.

Polímeros sintéticos

A raíz de las desventajas que presentaban los polímeros naturales, se comenzó a investigar en materiales sintéticos que evitaran estas propiedades y conservaran solamente las positivas. Mediante cambios en los procesos de síntesis, se puede influir en la resistencia mecánica, la porosidad y muchas otras propiedades del polímero. Estos materiales son mucho más controlables, pudiendo así fabricar un producto más predecible y con un riesgo de rechazo inmunológico menor.

Algunos ejemplos de estos polímeros sintéticos son:

- Polietilenglicol
- Poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)
- Materiales a base de anilina
- Hidrogeles de metacriloilo de gelatina híbridos

Desafíos

Ni los materiales sintéticos ni los naturales son perfectos. Los sintéticos presentan mayor control sobre las propiedades bioquímicas y mecánicas y son más estables y reproducibles, aunque carecen de lugares específicos para la adhesión celular, y son por tanto menos biocompatibles. Los naturales, por su parte, sí tienen estas propiedades de biocompatibilidad, pero su rápida degradación, las malas propiedades mecánicas y eléctricas y la falta de propiedades antioxidantes los alejan de ser idóneos. Por ello, lo que se ha comenzado a plantear es el desarrollo de materiales híbridos, que mezclen las características positivas de ambos y puedan mejorar sus flaquezas.

Además, las nuevas investigaciones deben enfocarse también en responder distintos paradigmas:

- Desarrollar un hidrogel que cubra todos los requisitos necesarios.
- Concretar la dosis de hidrogel, el momento adecuado en el que inyectarlo y el despliegue del material son otros factores clave que necesitan más investigación.
- Un diseño de catéter adecuado.
- Comprender el mecanismo de lesión exacto, para desarrollar materiales enfocados en suplir esas lesiones.³⁴

INGENIERÍA DE TEJIDOS y APLICACIONES EN CARDIOLOGÍA

A raíz de las anteriores líneas de investigaciones, surgió la ingeniería de tejidos. Esta se define como la práctica de combinar andamios, células y moléculas biológicamente activas en tejidos funcionales. Su principal objetivo es conseguir creaciones funcionales que recuperen, mantengan o mejoren a los tejidos dañados o a órganos completos.

PARCHES CARDÍACOS

Tras los resultados en investigación de la terapia celular e hidrogeles, se comenzó a investigar la forma de paliar sus limitaciones, como la baja estabilidad, su limitada vida media o el rechazo inmunológico. Para ello, se pensó en su unión; utilizar estas células madre en combinación con materiales como hidrogeles, cambiando así el método de administración. Estos parches están compuestos básicamente por un sustrato y por los ingredientes terapéuticos³⁷, que expondremos a continuación.

Fuentes de células

Las fuentes de células utilizadas en los parches cardíacos son básicamente las investigadas para la terapia celular: células madre mesenquimales, células de la cardiosfera, células madre pluripotenciales inducidas, ...

Parche acelular (biomoléculas activas)

En este caso, los materiales utilizados son los comentados en el epígrafe de la terapia acelular, como son los factores de crecimiento, las vesículas extracelulares o los microARNs, entre otros.

Materiales para la fabricación del parche

Debido a la acción mecánica del corazón y a la bioactividad inestable de las células y moléculas biológicas, se necesita gran cantidad de sustrato para lograr un buen microambiente celular que sea adecuado para la regeneración cardíaca, así como para conseguir un óptimo soporte mecánico. Tal y como se ha comentado en otros apartados, es muy importante una buena biocompatibilidad, resistencia mecánica y biodegradabilidad entre los materiales utilizados y el tejido cardíaco. Para ello, se utilizaron andamios o "scaffolds" de distintos materiales, orientados a este propósito. Según el origen del material diferenciamos sintéticos o naturales.

Materiales sintéticos

Los materiales sintéticos tienen la ventaja de ser reproducibles y han mostrado cumplir los requisitos físico-mecánicos necesarios para su aplicabilidad. Algunos de los más estudiados han sido el alcohol vinílico o PVA, el ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), el ácido poli(L-láctico) (PLLA) y los poliuretanos (PU).

A través de un polímero sintético y gracias a sus propiedades mecánicas, posibilitan un fácil enlace entre las células contenidas y el miocardio a tratar.

En la terapia con células madre, se presentaba el problema de que era complicado administrar los factores secretados en la región a tratar; el parche de microagujas permite solucionar esos problemas. En un estudio reciente, se utilizó un parche con microagujas integrado en células estromales cardíacas buscando una regeneración cardíaca post-IAM. En este modelo, las microagujas poliméricas sirven para crear "canales" entre el miocardio del huésped y las células madre terapéuticas, permitiendo que los factores regenerativos secretados por estas células se liberen en el miocardio lesionado, promoviendo la reparación cardíaca. En el estudio en ratas, la aplicación del parche aumentó las funciones cardíacas y la angiomiogénesis. En el estudio en cerdos, la aplicación del parche no fue tóxica y aumentó la protección de la función cardíaca³⁸.

Como hemos dicho, estos materiales destacan por sus propiedades mecánicas, sobre todo su resistencia. Esto los hace una buena opción para la construcción de parches epicárdicos acelulares, que muestran una gran eficacia terapéutica en la reconstrucción de tejidos cardíacos. En modelos con ratas, un parche viscoelástico adhesivo mostró revertir la remodelación del VI post-IAM. Este parche estaba hecho de hidrogel transparente entrecruzado iónicamente, adaptándose así a la deformación cíclica del miocardio, revirtiendo la remodelación y restaurando la función cardíaca³⁹.

Las ventajas de los materiales sintéticos es que, al no contar con biomoléculas ni células, son superiores en el almacenamiento a largo plazo, mantienen una calidad estable y su proceso de fabricación es sencillo.

Materiales naturales

Por su parte, los materiales naturales muestran como principal ventaja frente a los sintéticos una biocompatibilidad y una conservación de la estructura muy superior, logrando imitar el microambiente celular. Pueden ser derivados de fuentes in vivo o de origen natural. Algunos de los más utilizados son el colágeno, la fibrina, el alginato, el ácido hialurónico, la gelatina y la matriz extracelular (ECM) descelularizada.

De todos ellos, el más utilizado es el colágeno, debido a que posee una antigenicidad muy baja y unas amplias propiedades quimiotácticas, lo que propicia un entorno muy similar al del tejido.

En la actualidad, el material que más se está estudiando es la ECM descelularizada, que proporciona un entorno adecuado para permitir los procesos de regeneración cardíaca. Puede obtenerse del corazón (sobre todo miocardio y pericardio) o de fuentes no cardíacas, como de la submucosa del intestino delgado o de la matriz de la vejiga. Sin embargo, la dificultad para retener la viabilidad celular continúa siendo un problema. Para ello, se crearon células estromales cardíacas sintéticas (synCSC), a partir de las cuales fabricaron un parche cardíaco terapéutico⁴⁰, consiguiendo aumentar la conservación del implante durante mucho más tiempo. La función de reparación cardíaca se confirmó en un modelo de rata, y se probó también con buenos resultados en un modelo porcino.

Las buenas propiedades de la ECM descelularizadas han abierto nuevos horizontes para el uso de nuevas tecnologías como la impresión 3D.

Debido a que la respuesta inmune anti-implante sigue siendo un problema, recientemente se desarrolló una biotinta adaptada para impresión 3D a partir de hidrogel de ECM⁴¹. En este caso, el ECM se generó a partir del epiplón del paciente, por lo que no se generó ningún tipo de inmunidad.

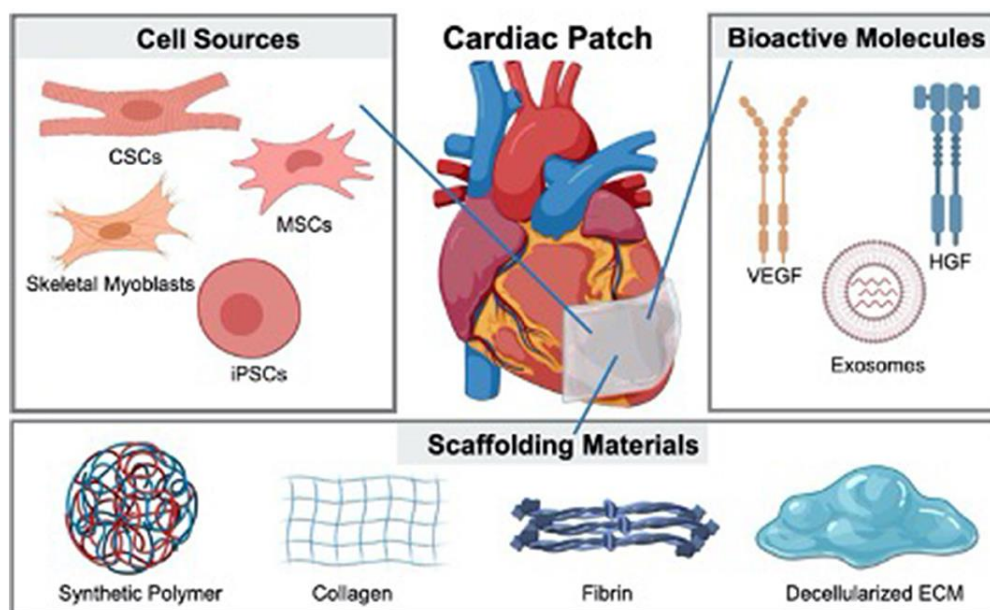


Figura 6. Fabricación de parches cardíacos a partir de distintos materiales³⁷.

Parches cardíacos sin andamios

Pese a que los parches con andamiaje han demostrado numerosas ventajas, que contengan materiales inmunógenos hace que persistan los fenómenos de inmunidad y arritmogenicidad. Para evitar esto, se comenzaron a desarrollar los llamados parches sin estructura. El que ha conseguido resultados más prometedores ha sido el de láminas de células, consiguiendo un microambiente biomimético con buena comunicación intercelular⁴². Esto se consigue mediante un recubrimiento de poli-N-isopropilacrilamida sobre una placa de cultivo celular. Este polímero tiene la capacidad de que, cuando la temperatura pasa de 37°C (temperatura de cultivo de las células) a 20°C, su superficie pasa de ser hidrofóbica a hidrofílica debido a la transformación de la conformación. Así, las células solo se adhieren a la superficie hidrófoba y se separan de la superficie hidrófila. Después, las células, a 20°C, se desprenderán espontáneamente

El primer estudio en humanos con láminas de células fue en 2012, recibiendo un implante de láminas de células de mioblastos esqueléticos. Actualmente, se han demostrado ventajas en la regeneración cardíaca de las células madre derivadas del tejido adiposo, capaces de mejorar la secreción de VEGF. Además, estas terapias han demostrado disminuir la arritmogenicidad, uno de los grandes inconvenientes que se buscaban mejorar.

Limitaciones y nuevas direcciones

Los parches cardíacos necesitan la cirugía abierta para su implantación. El paciente objetivo, que acaba de sufrir un infarto, no siempre es funcionalmente apto para este tipo de operaciones, por lo que deberían buscarse nuevos métodos mínimamente invasivos. También sería interesante la búsqueda de nuevos métodos de fabricación, como la ingeniería 3D.

Además, mejorar la biocompatibilidad de los materiales sigue siendo algo primordial para conseguir llegar a los ensayos clínicos, ya que la respuesta inmune sigue siendo un importante inconveniente.

La biodegradación es otro elemento importante, ya que el rechazo inmunológico durará más en los parches que más tardan en degradarse.

La capacidad de integración de los parches es muy importante para realizar su función, sin embargo, la adhesión al tejido provoca importantes efectos secundarios. Recientemente se ha descubierto que la modificación de la superficie reduce la adhesión tisular, para lo que sería importante el uso de polímeros, que tienen esta capacidad.

Otra línea de investigación es mejorar el almacenamiento a largo plazo; la manera de conservar la viabilidad y la funcionalidad de las células continúa suponiendo un problema para la producción a gran escala de estos parches terapéuticos³⁷.

ANDAMIOS DE MATRIZ EXTRACELULAR DESCELULARIZADA

Otro modelo ampliamente estudiados en los últimos años han sido los andamios de matriz extracelular, debido a la buena biocompatibilidad y bioactividad. Entre ellos, destacan los andamios de matriz extracelular descelularizada (dECM), obtenidos a partir de tejidos u órganos, tanto humanos como animales, eliminando los componentes celulares inmunogénicos que hay en ellos.

En los andamios de dECM encontramos la ECM, formando el marco tridimensional, y numerosas macromoléculas extracelulares, que ejercen diferentes funciones según sus propiedades:

- Colágeno: proporciona resistencia a la tracción y conecta el marco del tejido u órgano. Lo encontraremos en la mayoría de sistemas esqueléticos y tejidos blandos.
- Elastina: proporciona elasticidad y aumenta la hemocompatibilidad. Formará parte de la mayoría de tejidos blandos.
- Fibronectina: está implicada en múltiples funciones celulares, ya que se une a proteoglicanos, glicosaminoglicanos, fibrina, heparina, ... También estará en la mayoría de los tejidos.
- Laminina: promueve la adhesión y la migración celular. Se encuentra en todas las membranas basales, y es indispensable para la integridad de los epitelios.
- Proteínas matricelulares: contienen lugares de anclaje para proteínas estructurales y receptores de superficie modular, además de modular la actividad de determinados factores de crecimiento. Se encontrará en los tejidos vasculares.

Las señales bioquímicas y las propiedades mecánicas fisiológicas se mantienen tras los procesos empleados para la descelularización, lo que proporciona un medio adecuado para el soporte mecánico y un modelo biológico correcto para la siembra celular. Esto confiere a la dECM unas propiedades idóneas para la restauración de órganos dañados, la regeneración de tejidos endógenos y el reemplazo de órganos.

Estos andamios de dECM los podemos clasificar principalmente en dos tipos:

- dECM derivada de órganos o tejidos: poseen la arquitectura 3D natural del órgano o el tejido elegido, eliminando los componentes inmunogénicos y preservando la matriz extracelular no inmunogénica, que posteriormente se sembrará con células. Este andamio mantiene la morfología de los poros y la alineación de las fibras de colágeno, lo que mejora la adhesión, proliferación y diferenciación celular. Además, las propiedades mecánicas y las condiciones microambientales son más similares a la ECM nativa que la dECM acelular.
- dECM acelular o dECM derivada de células: se obtiene a partir de cultivos de células in vitro. Una vez las células secretan una ECM específica, esta se descelulariza. El inconveniente principal es que es mucho más difícil de conseguir que la anterior. Sin embargo, podría reducir el riesgo de transferencia de patógenos causada por la ECM

alogénica, además de disminuir e incluso eliminar las respuestas inmunitarias del huésped hacia las ECM xenogénicas.

Técnicas de descelularización

Con “descelularización” nos referimos a la eliminación de los componentes celulares de un tejido u órgano, manteniendo su arquitectura y propiedades originales. Para ello, existen numerosas técnicas. Expondremos algunas de las más comunes a continuación:

Tratamientos físicos

Modulan las características físicas, como la temperatura, la fuerza y la presión, con el objetivo de facilitar el enjuague de las soluciones detergentes, la rotura de las membranas celulares y la eliminación del contenido celular. Algunos de los más utilizados son:

- Ciclos de congelación-descongelación: es un proceso repetitivo en el que hay una liofilización en nitrógeno y una posterior descongelación en solución tampón. Con ello se consiguen desintegrar las membranas celulares y se promueve la lisis celular. La separación de las células de la ECM se consigue mediante la formación de cristales de hielo intracelulares que se generan mediante el proceso.
- Inmersión y agitación: se sumergen los tejidos en distintas soluciones con agitación mecánica constante. Esta combinación favorece la ruptura de las células, el desprendimiento de las membranas y los componentes celulares. Este método es el más adecuado para las partes más pequeñas y frágiles de los órganos y tejido.
- Perfusión: consiste en la canulación de los tejidos u órganos, para posteriormente establecer un canal para la circulación de los agentes descelularizantes a través del sistema vascular intrínseco. Es el método utilizado para los tejidos más grandes u órganos completos.

Tratamientos químicos

En este caso, se rompen los enlaces y se eliminan los componentes celulares mediante detergentes y agentes químicos.

- Detergentes iónicos y no iónicos: son sustancias anfipáticas solubles, que interrumpen las interacciones hidrofóbicas-hidrofílicas intermoleculares. Eliminan los componentes celulares inmunogénicos solubilizando las membranas celulares y disociando el ADN de las proteínas. El inconveniente es que, al alterar y disociar las proteínas, pueden dañar la estructura del ECM. La principal diferencia es que el detergente no iónico es menos agresivo, y tiene menos efectos adversos.
- Ácidos y bases: catalizan la degradación hidrolítica de biomoléculas, componentes citoplasmáticos y ácidos nucleicos. Al igual que los detergentes, pueden dañar la estructura del ECM y alterar sus componentes. Los ácidos más utilizados son el ácido peracético (PAA), el ácido clorhídrico y el ácido acético, mientras que las bases más utilizadas son el hidróxido de amonio, el hidróxido de sodio y el sulfuro de sodio.
- Soluciones hipertónicas e hipotónicas: el uso de soluciones con una concentración de soluto distinta a la de las células es útil para eliminar sus componentes celulares, ya que, mediante un efecto osmótico, induce la lisis, la deshidratación y la muerte celular de los tejidos, consiguiendo la descelularización. La eliminación de las proteínas se logra mediante soluciones hipertónicas y la de los núcleos y el ADN mediante soluciones hipotónicas. Un inconveniente destacable que tienen es que necesitan ser combinados

con detergentes o enzimas para conseguir la eliminación completa de los residuos celulares.

Tratamientos enzimáticos

Rompen cadenas específicas dentro de fragmentos celulares o adherencias de matriz celular. La más utilizada es la nucleasa, una enzima que cataliza la hidrólisis de las cadenas de desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos, colaborando en la eliminación celular. La nucleasa típica es la DNAasa, debido a la especificidad para eliminar el ADN y retener proteínas. Esta se utiliza generalmente después de los detergentes, que aumentan la porosidad, permitiendo que entre más fácilmente, ayudando así a eliminar los ácidos nucleicos residuales y los desechos celulares.

Combinación de tratamientos físicos, químicos y enzimáticos

Todos estos métodos son capaces de eliminar componentes celulares, pero también de dañar la composición y estructura del ECM, y de alterar sus propiedades. Por ello, para minimizar los daños y maximizar la eliminación del contenido celular, estos métodos deben combinarse, ya que el uso de cualquiera de ellos por sí solo es insuficiente.⁴³

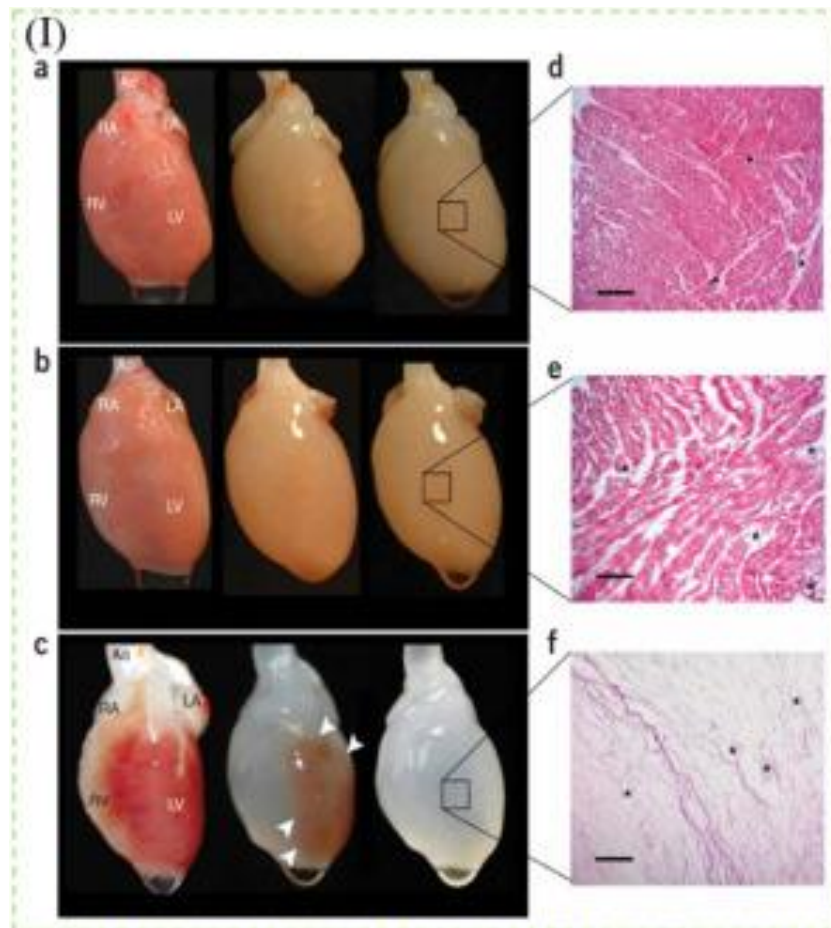


Figura 7. Descelularización de corazón de rata⁴³.

Postprocesamiento de los andamios

Tras las técnicas de descelularización, los dECM deben someterse a determinadas técnicas para mejorar sus condiciones:

- Esterilización: para eliminar los componentes tóxicos y los microorganismos y mejorar su biocompatibilidad. Hay que tener en cuenta que estas técnicas pueden producir cambios en las propiedades físico-químicas, como la ruptura de cadenas macromoleculares.
- Entrecruzamiento o reticulación: para mejorar la resistencia mecánica y poder garantizar una estructura estable.
- Modificación: aumenta la densidad de los poros y mejora la infiltración celular. Esto se consigue mediante técnicas como el láser o el electrohilado.

Recelularización de los andamios

Tras la descelularización y el postprocesamiento, el siguiente paso es la repoblación de los andamios de dECM. Para ello, existen dos aproximaciones:

La primera consiste en introducir de manera exógena las células. Para ello, las células madre embrionarias (ESC) han sido las más utilizadas, y no sólo en tejido cardíaco, también en otros como córnea y riñón. Sin embargo, como ya se ha mencionado, por cuestiones éticas el uso de estas células está estrictamente regulado, por lo que actualmente las investigaciones se centran en el uso de las iPSCs, ya que se pueden conseguir perfiles de expresión génica muy parecidos a los de las ESC y se evitan los condicionantes éticos. Además, algunos estudios muestran que la combinación de andamios dECM junto con células derivadas de iPSC pueden mejorar el fenotipo y la viabilidad de estas últimas. Esta combinación ya se ha probado en órganos como riñón, pulmón y páncreas, además de corazón. Los principales inconvenientes de estas estrategias son la contaminación celular, la vida corta del trasplante, el aumento de la transmisión de enfermedades y la obstrucción microvascular.

Para evitar estos inconvenientes, se desarrolló una segunda estrategia libre de células, en la que se busca implantar el biomaterial e intentar que las células del tejido sano circundante invadan el andamio, es decir, se busca el reclutamiento de las células madre endógenas en el sitio dañado. Para que esta estrategia funcione, son necesarios factores de estimulación y reclutamiento en el lugar de la lesión, que induzcan la proliferación y diferenciación celular, contribuyendo a la regeneración del tejido.⁴³

El crecimiento de las células se realizará en un biorreactor, que permitirá las condiciones adecuadas para que esto suceda.

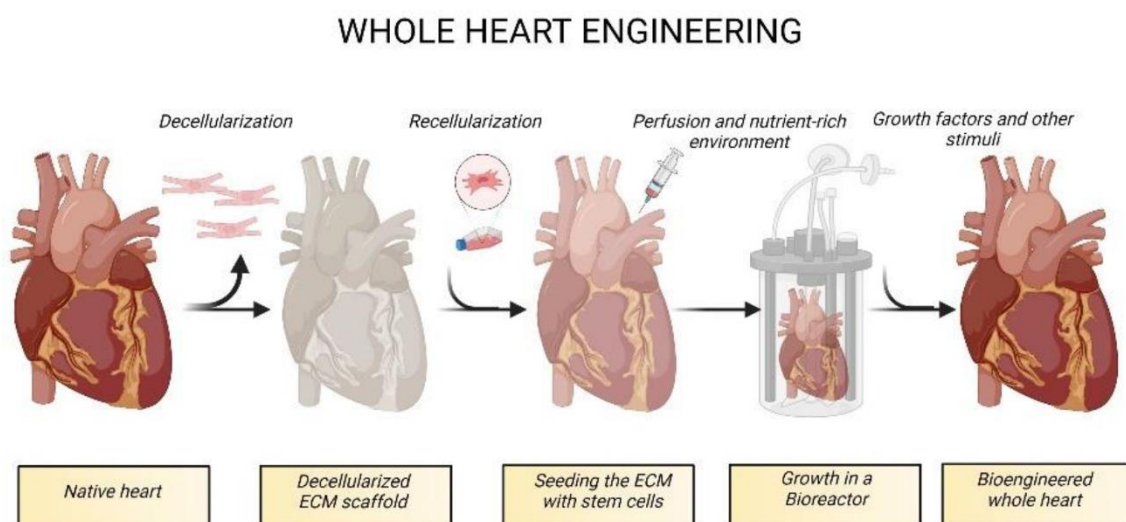


Figura 8. Esquema del proceso completo de descelularización y repoblación⁴⁴.

Aplicaciones en cardiología

Las matrices extracelulares descelularizadas han tenido un importante desarrollo en la última década, tanto que además de haber múltiples ensayos preclínicos, algunas estrategias han conseguido superar la barrera de los estudios clínicos, llegando a probarse en humanos, como comentaremos posteriormente.

Las dos estrategias principalmente utilizadas con este material han sido los parches cardíacos y los andamios inyectables.⁴⁵

Modelos murinos

En cuanto al uso de parches, Sarig et al comparó el uso de un andamio de ECM cardíaca (cECM) en el tratamiento del infarto de miocardio tanto agudo como crónico. En ambos, el tamaño del infarto disminuyó, mejoró el diámetro del ventrículo izquierdo y aumentó el grosor de su pared en comparación con los no tratados. Además, en el infarto agudo de miocardio mejoraron la fracción de eyección y otros parámetros funcionales⁴⁶. En otro estudio se observó que los parches con cECM disminuyeron la distensibilidad mecánica, inhibieron el deterioro miocárdico y redujeron la cicatrización, a la vez que mejoraron la angiogénesis⁴⁷.

Por otro lado, tenemos a los materiales inyectables, que se pueden administrar a través de catéteres, de forma menos invasiva, reduciendo así el potencial de infección. Otra ventaja es que estos materiales se pueden incorporar en todo el miocardio, mientras que los parches solo actúan a nivel local. Un estudio mostró que en el miocardio inyectado con cECM se observaba una reducción de la fibrosis e hipertrofia y se encontraban menos alteraciones en el metabolismo tisular, en la apoptosis y en las respuestas inmunes alteradas, a la vez que se producía un aumento de la angiogénesis y el desarrollo vascular⁴⁸. En otro estudio con ECM de miocardio de pez cebra (zECM) se observó la recuperación funcional cardíaca y la reparación de los corazones después del infarto, a la vez que se redujo la dilatación del ventrículo izquierdo (VI)⁴⁹.

Modelos porcinos

En un estudio de modelo porcino en el que se utilizó cECM inyectable 2 semanas después de la inducción del infarto de miocardio, se observó un aumento significativo de la fracción de eyección y en el movimiento de la pared cardíaca. Además, el tamaño del infarto y la cicatrización disminuyeron. La inyección de cECM no afectó el tejido periférico, la química sanguínea ni el ritmo cardíaco⁵⁰.

En otro estudio basado en la aplicación de parches de ECM sobre el epicardio (CORMATRIX)⁵¹, se observó una mejora sobre el grosor epicárdico y miocárdico, sin causar constricción miocárdica ni fibrosis. También se vio que la vascularización en la región infartada aumentó significativamente. En un estudio diferente de modelo ovino, el parche mostró buena contractilidad, señal eléctrica organizada y buena alineación celular. Los parches se integraron a los 5 meses, mostrando una rigidez similar a la del miocardio⁵².

Modelos humanos: avances clínicos

En humanos ya se habían probado materiales derivados de las dECM en estudios clínicos, pero no andamios de dECM diseñados con ingeniería de tejidos. Actualmente existen dos estudios en estadios clínicos:

- Terapia inyectable: se trata de un ensayo clínico en fase I (NCT02305602) destinado a evaluar la eficacia del VentriGel en el tratamiento del infarto de miocardio con elevación del ST tratados con ICP y que tienen evidencia de remodelación del VI^{48,50}.

- Parche cardíaco: se trata de un parche de dECM, CorMatrix. A pesar de que los estudios clínicos de fase 1 (NCT02887768) se completaron en 2017, los resultados no han sido publicados todavía. Este estudio pretende demostrar la reparación del infarto epicárdico en pacientes que se someten a cirugía de bypass coronario dentro de las 6 semanas posteriores al IAM, como un complemento de la revascularización quirúrgica.

Recientemente, se han publicado dos estudios en pacientes humanos individuales, que utilizaron materiales provenientes de dECM para enfermedades cardiovasculares:

- En el primero se utilizaron MSC del líquido amniótico humano en una matriz líquida humana derivada de la membrana amniótica para el tratamiento de un varón de 59 años con angina refractaria, insuficiencia cardíaca y miocardiopatía isquémica por diabetes crónica⁵³. El paciente presentó disminución de la angina y en la RMN se observaron áreas de confluencia de miocardio sano con mejor engrosamiento de la pared y una fracción de eyección del 40%.
- En el segundo caso, se implantó el CorMatrix en un hombre de 62 años con antecedentes de diabetes, fibrilación auricular, insuficiencia cardíaca clase IV e hipertensión. En este se vio que el parche mostró estrías igual que el miocardio nativo, cardiomiocitos maduros y estroma fibrótico, posiblemente debido a la resolución de la inflamación inicial⁵⁴.

Limitaciones y nuevos desafíos

Pese a que los avances en estos últimos años han sido notables, aún estamos lejos de conseguir una situación ideal. Para empezar, se necesitarían unos protocolos que garanticen preservar la microarquitectura y composición del ECM durante los procesos de descelularización, preservando las propiedades estructurales, bioquímicas y biomecánicas, y minimizando la inmunogenicidad de estos productos.

Otro paso sería mejorar los procesos de recelularización, ya que ninguna estrategia ha demostrado ser óptima, y mejorar las estrategias de siembra y la determinación de la cantidad de células a sembrar. El descubrimiento de las iPSC brinda una muy buena oportunidad para ello, pero aún con ello se necesitan métodos innovadores para la expansión eficiente de los cardiomiocitos derivados de i-PSC (CM-iPSC) y acelerar su aplicación clínica.

Por otro lado, para conseguir un buen tejido cardíaco funcional se necesita la combinación de células, andamios y señales bioquímicas y biofísicas adecuadas, lo más similares posibles a las cardíacas. Para ello, es necesario un cultivo y una posterior estimulación en un biorreactor de perfusión que proporcione un entorno rico en nutrientes. Este sistema proporciona un entorno estéril al tiempo que permite realizar modificaciones en los estímulos celulares. Se necesitan también protocolos estandarizados para el diseño de estos biorreactores.

A día de hoy no se conocen los posibles riesgos de génesis neoplásica a partir de las células madre comentadas, especialmente de ESC y i-PSC, por lo que es un tema que debería investigarse, para poder informar sobre la formación de neoplasias de células madre progenitoras antes de su implementación clínica.

Finalmente, el objetivo de crear corazones humanos completos y funcionales aún no se ha logrado. Sin embargo, los investigadores se están enfocando cada vez más en crear parches cardíacos derivados de dECM que pueden ser igual de efectivos para reparar el miocardio dañado.⁴⁴

BIOIMPRESIÓN 3D

Como última técnica innovadora a mencionar, y muy sonada en los últimos años para otras aplicaciones, está la bioimpresión 3D (3DBP o 3D Bioprinting). Esta es una técnica de fabricación aditiva, es decir, el material se va depositando capa por capa permitiendo una estructura en tres dimensiones sin necesidad de la utilización de moldes.

La bioimpresión está precedida por la creación de un modelo 3D-específico, creado a partir de imágenes clínicas o por modelos de diseños asistidos por ordenador. A partir de técnicas de imagen pueden crearse modelos para reproducir por técnicas de 3DBP. El conjunto de técnicas que se utilicen deben ser volumétricas, es decir, que permitan estimar volúmenes, por lo que las más útiles serán la tomografía computarizada (TC) activada por electrocardiografía, la ecocardiografía 3D volumétrica y la resonancia magnética cardíaca (RMC). Como la ecografía presenta más artefactos y limitaciones, se prefieren la TC y la RMC frente a ella para la impresión 3D. En pacientes con marcapasos o implantes metálicos deberá usarse TC obligatoriamente⁵⁵.

Una vez recopilada la información anatómica 3D, esta se convierte en un modelo digital 3D-específico mediante un proceso llamado "segmentación de imágenes". El conjunto de imágenes se exporta a un formato específico a partir del cual se identifica y divide la geometría anatómica en función de la escala de grises de las imágenes 2D obtenidas en las proyecciones axial, coronal y sagital. Después se crean "máscaras de segmentación": el software une estas imágenes 2D, agrupando los píxeles de similar rango de intensidad para que se impriman del mismo material. Estas máscaras terminarán siendo los modelos cardíacos 3D y son guardados como un archivo de lenguaje especial, sobre el que se podrán realizar alteraciones y ajustes.

Técnicas de impresión

Una vez diseñado el modelo tridimensional en el ordenador, llega el momento de realizar la impresión de este. Existen diferentes formas de realizarla. A continuación comentaremos algunas de ellas⁵⁶.

Inyección de tinta

Se utilizan impresoras de inyección (como las clásicas oficinas y ordenadores) reemplazando el cartucho de tinta con biotinta, es decir, material biológico, y añadiendo una fase ascendente controlada electrónicamente para completar el eje z. Estos dispositivos se clasifican en dos tipos, los térmicos y los piezoeléctricos.

Mediante estas impresoras ya se han conseguido fabricar híbridos cardíacos contráctiles en forma de láminas rectangulares 3D y medios corazones. Sin embargo, estas todavía son incapaces de imprimir células a altas densidades, algo fundamental para crear construcciones cardíacas.

Extrusión

La extrusión permite la expulsión de biotintas en filamentos cilíndricos u otras plataformas, para formar estructuras 3D capa por capa, permitiendo una bioimpresión más rápida y sencilla respecto a otras técnicas. Además, esta técnica sí consigue altas densidades celulares cercanas a las fisiológicas.

Procesamiento de luz digital

Se utiliza una matriz de microespejos digitales para solidificar selectivamente biotintas fotocurables capa por capa, junto con una fase ascendente controlada para el eje z.

La principal ventaja frente al resto es su fabricación rápida y sencilla, ya que se imprime simultáneamente toda la capa, evitando cambiar la dirección del cabezal. Sin embargo, los materiales utilizados deben ser fotocurables, y la exposición a la luz UV puede dañar potencialmente el ADN celular durante la impresión.

Esterolitografía

Es un sistema de bioimpresión asistido por láser que sirve para crear estructuras 3D mediante el uso de luz sobre polímeros líquidos fotopolimerizables. Este sistema integra una fuente de luz, un depósito de fotopolímero líquido y una etapa de movimiento de tres ejes.

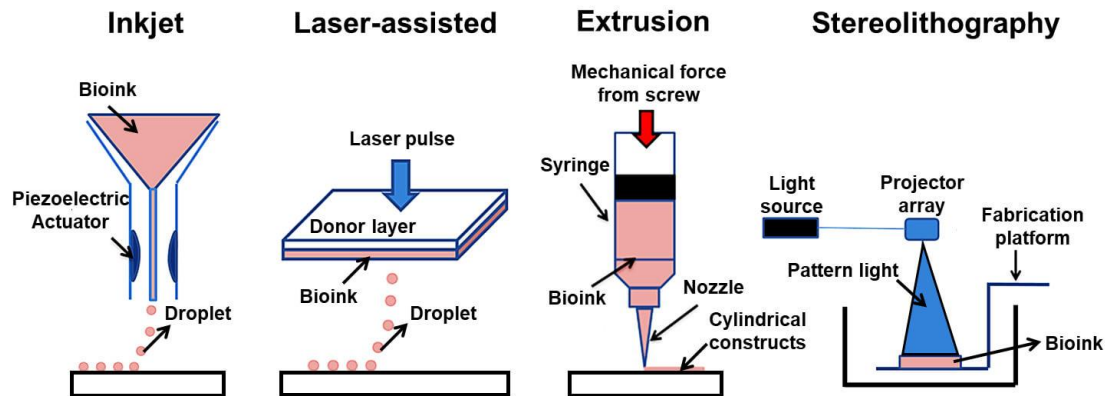


Figura 9. Distintos tipos de técnicas de impresión 3D⁵⁷.

Biotintas

En este caso, es fundamental que los materiales biológicos elegidos puedan ser imprimibles de forma estable, consiguiendo una buena integridad estructural, a la vez que una disposición constante y precisa y una buena solidificación, que sea rápida y sin toxicidad alguna. Todo ello afectará a la viabilidad celular y su posterior funcionalidad, así como la estrategia de impresión utilizada.

Estas biotintas también deben tener funciones protectoras, evitando que las células sean dañadas por las distintas presiones a las que son sometidas durante los procesos de impresión y deben imitar a la matriz extracelular cardíaca, para promover la proliferación y diferenciación celular.

Como en anteriores apartados, los dividiremos en naturales y sintéticos.

Biomateriales naturales

Uno de los más típicos son las matrices extracelulares descelularizadas (dECM) derivadas del corazón (hdECM), una clase de hidrogeles que se obtienen del órgano de interés mediante detergentes que eliminan las células, logrando preservar la ECM y manteniendo la arquitectura de las interacciones célula-célula. De este modo se conserva la gran mayoría de las señales químicas del tejido cardíaco original, aumentando la supervivencia, diferenciación y funcionalidad celular.

En un estudio se trasplantó un parche de corazón hecho con hdECM en un modelo de ratas con IAM⁵⁸. Se observaron remodelaciones menos perjudiciales en el grupo de hdECM que en el grupo control, donde se observó una remodelación excéntrica. Sin embargo, se vio que las concentraciones terapéuticas tenían una viscosidad relativamente baja, y las capas bioimpresas eran difíciles de mantener en su estructura 3D previamente definida.

Aunque hay estudios que han intentado paliar la mala calidad de la impresión con hdECM, existen dos problemas bastante importantes a resolver. El primero de ellos es que la concentración requerida de solución de hdECM es bastante más alta que la utilizada en estudios terapéuticos, lo que dificulta su preparación, necesitando numerosas fuentes porcinas (animal del que se recolectan). En segundo lugar, las impresiones de estructuras hechas puramente de hdECM son bastante complejas y pueden romperse al aplicarse como un parche, ya que tienen una naturaleza fibrosa⁵⁵.

Biomateriales sintéticos

Los materiales sintéticos, en cambio, ofrecen mejor integridad física y resistencia mecánica, y mejor capacidad de impresión. Además, se puede controlar el ajuste de su peso molecular, controlando así sus propiedades fisicoquímicas.

El poli (ácido L-láctico) (PLLA) es uno de los más estudiados. Este se degrada en agua y CO₂ por hidrólisis o esterasas. Se ha visto que los andamios vasculares hechos a partir de este material pueden mejorar las deficiencias asociadas a los implantes metálicos, como la disminución de la vasomoción y la remodelación de la pared arterial. Sin embargo, tanto el PLLA como la mayoría de los hidrogeles sintéticos son frágiles y carecen de flexibilidad y elasticidad, algo que dificulta enormemente imitar la suavidad, el estiramiento y la elasticidad de los tejidos blandos humanos⁵⁵.

Biotintas híbridas

En este caso, se combinan polímeros naturales y sintéticos, como hemos visto en otros apartados, para combinar los puntos fuertes de cada uno y evitar las debilidades.

En la mayoría, la combinación va encaminada a aprovechar las propiedades de los materiales naturales de soporte celular y las mecánicas y de ajuste de los sintéticos, como por ejemplo el policaprolactona (PCL), un material muy utilizado en la 3DBP, pero con una baja bioactividad que acaba reduciendo la afinidad celular. Además, su alta hidrofobicidad provoca bajas tasas de regeneración tisular. Como solución a estos problemas, se añadieron nanotubos de carbono (CNT), cuyas propiedades los hacían idóneos para acabar con dichos inconvenientes.

También se ha estudiado el injerto de fragmentos hidrofílicos de polímeros sintéticos o naturales, como acrilatos, colágeno y quitosano, en biomateriales hidrofóbicos.

Por ejemplo, se combinaron hdECM con hidrogel de metacrilato de gelatina (GelMA) para imprimir parches cardíacos. La inclusión de hdECM mejoró la diferenciación y disminuyó la proliferación de células progenitoras cardíacas humanas neonatales (hCPC) en comparación con únicamente el GelMA, lo que puede significar la mejora del potencial paracrino de los parches GelMA-hdECM con hCPC.

Además, hay que tener en cuenta que el miocardio es un tejido eléctrico. Por ello, hay que tener en cuenta que los materiales utilizados deben ser conductores. Esto se ha demostrado en algunos estudios, utilizando por ejemplo nanovarillas de oro o nanotubos de carbono⁵⁵.

Fuentes celulares

Se han utilizado múltiples tipos de células, como células miocárdicas primarias, células progenitoras cardíacas humanas neonatales o células miocárdicas derivadas de células madre.

El problema de las células miocárdicas primarias o las hCPC es que tienen escasez de suministro. Para solucionarlo, se han investigado las células madre pluripotentes humanas.

Estas células madre se derivan de células madre embrionarias humanas (hESC) o de células madre pluripotenciales inducidas (iPSC) mediante factores de transcripción como Klf-4, OCT4, Sox 2 y c- Myc. De dicho modo, se podrían conseguir ilimitadas células para el 3DBP, evitando también las consideraciones éticas que conlleva y permitiendo realizar una medicina personalizada con implantes o fármacos específicos para el paciente. En un estudio, se utilizaron iPSC-CM para imprimir un parche cardíaco, a partir de estroma omental del propio paciente, evadiendo así el rechazo inmunológico y los fármacos inmunosupresores. Sin embargo, los iPSC-CM aún no cuentan con una organización y distribución definidas, ni con túbulos transversos funcionales, lo que hace necesario seguir investigando.^{55,56}

Aplicaciones

A continuación, vamos a describir algunas de las aplicaciones en las que se ha comenzado a utilizar el bioprinting 3D y lo que se observó en dichos estudios preclínicos.

Parches cardíacos con 3DBP

En un primer estudio, se combinaron GelMA y andamios de hidrogel ECM cardíaco con células cardíacas progenitoras procedentes de neonato (hCPC) para fabricar parches siguiendo un patrón de relleno de cuadrículas a 90°, con impresión por extrusión. Estas hCPC bioimpresas poseían una alta viabilidad celular y expresión génica de los factores de transcripción cardíacos tempranos y de la troponina T. Además, se formaron vasos a los 14 días tras la implantación in vivo, lo que sugiere que se consiguió la integración completa en el miocardio nativo, permitiendo el suministro de nutrientes a las células implantadas.⁵⁹

En otro modelo, se utilizaron dos biotintas que contenían iPSCs-CMs y células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVECs) respectivamente para desarrollar tejido cardíaco vascularizado. Se observó una vascularización mejorada para las estructuras bioimpresas multicelulares. Además, la disposición espacial de los HUVEC tuvo una gran importancia en la vascularización⁶⁰. La microestructura o el patrón también influye en las propiedades de estos parches. Se han identificado dos características microarquitectónicas, las cuales están definidas por la distancia entre hebras y el ángulo de alineación de estas hebras como parámetros principales para evaluar los comportamientos eléctricos/mecánicos y estructurales de las construcciones impresas en 3D⁶¹.

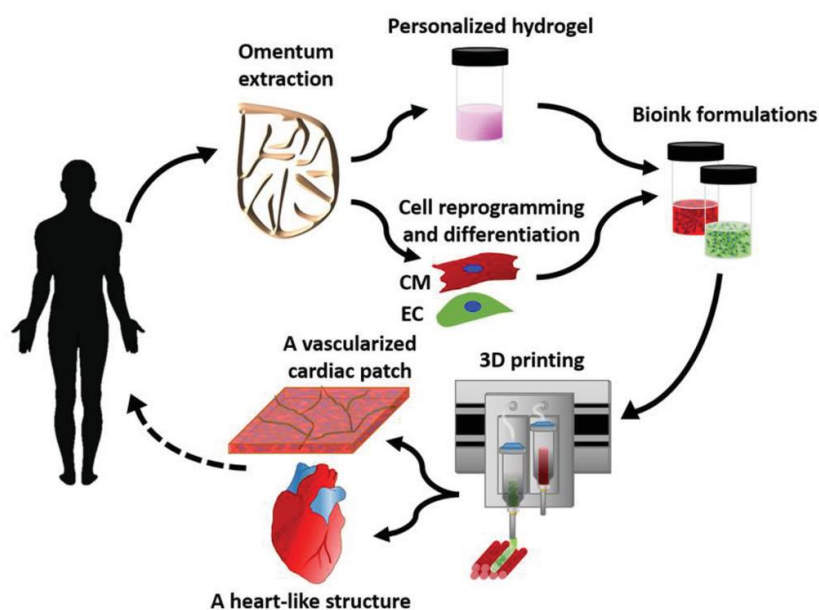


Figura 10. Ejemplo de parche cardíaco realizado con 3D Bioprinting, a partir de células de epiplón⁴¹.

Diseño de corazones 3D

Actualmente, la impresión de una estructura 3D exacta del corazón sigue siendo un desafío, y está limitada por la incapacidad de combinar varios tipos de células y crear estructuras de múltiples escalas con diferentes biomateriales. Lo que sí se ha conseguido es bioimprimir estructuras elaboradas similares a las de un corazón macroscópico.

Por ejemplo, se consiguió imprimir una válvula cardíaca de tres valvas de colágeno, que demostró una regurgitación de <15%⁶².

En otro estudio, se imprimieron corazones (de 20mm de altura y 14mm de diámetro) de dos tintas biológicas distintas, en los que se demostró la integridad de sus cavidades mediante la inyección de colorantes. Además, un día después de la impresión, se comprobó que las células cardíacas que lo formaban tenían una distribución homogénea⁴¹.

Limitaciones y nuevos desafíos

Pese a que en la última década hay partes del cuerpo humano que han sido bioimpresas (oreja, nariz) y utilizadas en la clínica^{63,64}, todavía es imposible crear un corazón funcional. Uno de los principales problemas es la resolución de la impresión, ya que la biotinta debe depositarse con una resolución similar al tamaño de la célula (5-10 μm), y para alcanzar aplicaciones clínicas se necesita tejido muscular grueso de múltiples capas. Otro de los grandes problemas es la creación de redes vasculares ramificadas, que permita la difusión de nutrientes y oxígeno. También, existe la necesidad de desarrollar nuevas estrategias de impresión, ya que el corazón está compuesto de múltiples tipos de células, ECM y estructuras multiescala para bombear sangre.

Otra línea de investigación factible sería mejorar las biotintas: conseguir modelos imprimibles, bioactivas, biodegradables, estables, asequibles y comercialmente disponibles con unas pautas de regulación apropiadas para su uso clínico⁶⁵, ya que los materiales disponibles en este momento todavía distan mucho de esas características.

OTROS EJEMPLOS DE USO CLÍNICO

Actualmente, existen numerosas líneas de investigación en otros tejidos, y algunos incluso han llegado a la clínica. Mencionaremos algunos ejemplos y su estado actual en el **Anexo**.

CONCLUSIONES

1. El infarto de miocardio es una enfermedad en la que hay que seguir investigando. Los tratamientos actuales son válidos pero insuficientes si queremos conseguir una recuperación completa y una buena calidad de vida para los pacientes.
2. El efecto terapéutico de las células empleadas viene principalmente de sus efectos paracrinos.
3. Las técnicas de ingeniería de tejidos en las que se combinan materiales y células han demostrado mayor eficacia terapéutica en comparación con las terapias “clásicas” o las que son exclusivamente celulares.
4. La implantación de los constructos es el principal limitante para su utilización en la clínica.
5. Las técnicas de biopresión 3D son prometedoras pero todavía están en etapas iniciales de su desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte. Definitivos 2021 y provisionales semestre 1/2022 [Internet]. 19-12-2022. 2021 [citado 22 de marzo de 2023]. Disponible en: https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=Estadistica_C&cid=1254736176780&menu=ultiDatos&idp=1254735573175
2. Netter FH. Atlas de Anatomía Humana. 6ª. Aiso S, Apaydin N, Bhatnagar R, Coco L, Enhua Y, Fogg QA, et al., editores. Barcelona: Elsevier; 2015. 221 p.
3. Histology Guide. Tricuspid Valve & Coronary Artery [Internet]. 2005. [citado 21 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://histologyguide.com/slideview/MH-071-heart/09-slide-1.html>
4. Histology Guide. Cardiac Muscle [Internet]. 2005. [citado 21 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://histologyguide.com/slideview/MH-054-cardiac-muscle/04-slide-1.html?x=12086&y=17845&z=38.9>
5. Pawlina W. Ross. Histología. Texto y atlas: correlación con biología molecular y celular. 7ª. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016. 340-366 p.
6. Schünke M, Schulte E, Schumacher U. Prometheus: Texto y Atlas de Anatomía. 5ª. Madrid: Editorial Medica Panamericana; 2021. 96-125 p.
7. Consenso ESC 2018 sobre la cuarta definición universal del infarto. Rev Española Cardiol [Internet]. enero de 2019;72(1):72.e1-72.e27. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300893218306365>
8. Sociedade Galega de Cardiología. ¿Qué es el infarto agudo de miocardio? [Internet]. [citado 21 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.sogacar.com/que-es-el-infarto-agudo-de-miocardio/>
9. Infarto agudo de miocardio, histología del tejido cardíaco. [Internet]. [citado 21 de mayo de 2023]. Disponible en: https://es.123rf.com/photo_104097828_infarto-agudo-de-miocardio-histología-del-tejido-cardíaco-micrografía-de-luz-el-área-del-infarto-es-.html
10. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. Eur Heart J [Internet]. 7 de enero de 2018;39(2):119-77. Disponible en: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/39/2/119/4095042>
11. Lage Gallé E, Sobrino Márquez JM, Martínez Martínez A. ¿Cuáles son las indicaciones y manejo del trasplante de corazón? Cardiacore [Internet]. octubre de 2010;45(4):143-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1889898X10001313>
12. Zhu D, Cheng K. Cardiac Cell Therapy for Heart Repair: Should the Cells Be Left Out? Cells [Internet]. 13 de marzo de 2021;10(3):641. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/3/641>
13. Gullestad L, Ørn S, Dickstein K, Eek C, Edvardsen T, Aakhus S, et al. Intravenous immunoglobulin does not reduce left ventricular remodeling in patients with myocardial dysfunction during hospitalization after acute myocardial infarction. Int J Cardiol [Internet]. septiembre de 2013;168(1):212-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167527312011989>
14. Moreira DM, Lueneberg ME, da Silva RL, Fattah T, Gottschall CAM. Methotrexate

- Therapy in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* [Internet]. 22 de noviembre de 2017;22(6):538-45. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1074248417699884>
15. Bulkley BH, Roberts WC. Steroid therapy during acute myocardial infarction. *Am J Med* [Internet]. febrero de 1974;56(2):244-50. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0002934374906032>
 16. Schjerning Olsen AM, Fosbøl EL, Lindhardsen J, Folke F, Charlot M, Selmer C, et al. Duration of Treatment With Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Impact on Risk of Death and Recurrent Myocardial Infarction in Patients With Prior Myocardial Infarction. *Circulation* [Internet]. 24 de mayo de 2011;123(20):2226-35. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.004671>
 17. Jiang X, Yang Z, Dong M. Cardiac repair in a murine model of myocardial infarction with human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 17 de diciembre de 2020;11(1):297. Disponible en: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-01811-7>
 18. Higuchi T, Miyagawa S, Pearson JT, Fukushima S, Saito A, Tsuchimochi H, et al. Functional and Electrical Integration of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Myocardial Infarction Rat Heart. *Cell Transplant* [Internet]. 1 de diciembre de 2015;24(12):2479-89. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.3727/096368914X685799>
 19. Shiba Y, Gomibuchi T, Seto T, Wada Y, Ichimura H, Tanaka Y, et al. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature* [Internet]. 10 de octubre de 2016;538(7625):388-91. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature19815>
 20. Ye L, Chang YH, Xiong Q, Zhang P, Zhang L, Somasundaram P, et al. Cardiac Repair in a Porcine Model of Acute Myocardial Infarction with Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiovascular Cells. *Cell Stem Cell* [Internet]. diciembre de 2014;15(6):750-61. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1934590914005219>
 21. Gao L, Gregorich ZR, Zhu W, Mattapally S, Oduk Y, Lou X, et al. Large Cardiac Muscle Patches Engineered From Human Induced-Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Cells Improve Recovery From Myocardial Infarction in Swine. *Circulation* [Internet]. 17 de abril de 2018;137(16):1712-30. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030785>
 22. Garbern JC, Lee RT. Cardiac Stem Cell Therapy and the Promise of Heart Regeneration. *Cell Stem Cell* [Internet]. junio de 2013;12(6):689-98. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1934590913002014>
 23. Oikonomopoulos A, Kitani T, Wu JC. Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes as a Platform for Cell Therapy Applications: Progress and Hurdles for Clinical Translation. *Mol Ther* [Internet]. julio de 2018;26(7):1624-34. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525001618300972>
 24. Peng H, Shindo K, Donahue RR, Abdel-Latif A. Cardiac Cell Therapy: Insights into the Mechanisms of Tissue Repair. *Int J Mol Sci* [Internet]. 26 de enero de 2021;22(3):1201. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/3/1201>
 25. Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, St. John M, Xie JS, Cattaneo S, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial

- infarction. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 9 de agosto de 2005;102(32):11474-9. Disponible en: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0504388102>
26. Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H, et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* [Internet]. 2 de abril de 2006;12(4):459-65. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nm1391>
 27. Can A, Ulus AT, Cinar O, Topal Celikkan F, Simsek E, Akyol M, et al. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cell Transplantation in Myocardial Ischemia (HUC-HEART Trial). A Study Protocol of a Phase 1/2, Controlled and Randomized Trial in Combination with Coronary Artery Bypass Grafting. *Stem Cell Rev Reports* [Internet]. 28 de octubre de 2015;11(5):752-60. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12015-015-9601-0>
 28. Bartolucci J, Verdugo FJ, González PL, Larrea RE, Abarzua E, Goset C, et al. Safety and Efficacy of the Intravenous Infusion of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Patients With Heart Failure. *Circ Res* [Internet]. 27 de octubre de 2017;121(10):1192-204. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.117.310712>
 29. Cheng K, Blusztajn A, Shen D, Li TS, Sun B, Galang G, et al. Functional performance of human cardiosphere-derived cells delivered in an in situ polymerizable hyaluronan-gelatin hydrogel. *Biomaterials* [Internet]. julio de 2012;33(21):5317-24. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961212004036>
 30. Shen D, Cheng K, Marbán E. Dose-dependent functional benefit of human cardiosphere transplantation in mice with acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med* [Internet]. septiembre de 2012;16(9):2112-6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1582-4934.2011.01512.x>
 31. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Malliaras K, Thomson LE, Berman D, et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* [Internet]. marzo de 2012;379(9819):895-904. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673612601950>
 32. Malliaras K, Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Wu E, Bonow RO, et al. Intracoronary Cardiosphere-Derived Cells After Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. enero de 2014;63(2):110-22. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109713041223>
 33. Csöböneiová M, Beerová N, Klein M, Debreová-Čeháková M, Danišovič Ľ. Cell-Based and Selected Cell-Free Therapies for Myocardial Infarction: How Do They Compare to the Current Treatment Options? *Int J Mol Sci* [Internet]. 7 de septiembre de 2022;23(18):10314. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/18/10314>
 34. Peña B, Laughter M, Jett S, Rowland TJ, Taylor MRG, Mestroni L, et al. Injectable Hydrogels for Cardiac Tissue Engineering. *Macromol Biosci* [Internet]. junio de 2018;18(6):1800079. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mabi.201800079>
 35. Frey N, Linke A, Süsselbeck T, Müller-Ehmsen J, Vermeersch P, Schoors D, et al. Intracoronary Delivery of Injectable Bioabsorbable Scaffold (IK-5001) to Treat Left Ventricular Remodeling After ST-Elevation Myocardial Infarction. *Circ Cardiovasc Interv* [Internet]. diciembre de 2014;7(6):806-12. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.114.001478>

36. Anker SD, Coats AJS, Cristian G, Dragomir D, Pusineri E, Piredda M, et al. A prospective comparison of alginate-hydrogel with standard medical therapy to determine impact on functional capacity and clinical outcomes in patients with advanced heart failure (AUGMENT-HF trial). *Eur Heart J* [Internet]. 7 de septiembre de 2015;36(34):2297-309. Disponible en: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehv259>
37. Mei X, Cheng K. Recent Development in Therapeutic Cardiac Patches. *Front Cardiovasc Med* [Internet]. 27 de noviembre de 2020;7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2020.610364/full>
38. Tang J, Wang J, Huang K, Ye Y, Su T, Qiao L, et al. Cardiac cell–integrated microneedle patch for treating myocardial infarction. *Sci Adv* [Internet]. 2 de noviembre de 2018;4(11). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aat9365>
39. Lin X, Liu Y, Bai A, Cai H, Bai Y, Jiang W, et al. A viscoelastic adhesive epicardial patch for treating myocardial infarction. *Nat Biomed Eng* [Internet]. 15 de abril de 2019;3(8):632-43. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41551-019-0380-9>
40. Huang K, Ozpinar EW, Su T, Tang J, Shen D, Qiao L, et al. An off-the-shelf artificial cardiac patch improves cardiac repair after myocardial infarction in rats and pigs. *Sci Transl Med* [Internet]. 8 de abril de 2020;12(538). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aat9683>
41. Noor N, Shapira A, Edri R, Gal I, Wertheim L, Dvir T. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts. *Adv Sci* [Internet]. 15 de junio de 2019;6(11):1900344. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.201900344>
42. Sekine H, Shimizu T, Yang J, Kobayashi E, Okano T. Pulsatile Myocardial Tubes Fabricated With Cell Sheet Engineering. *Circulation* [Internet]. 4 de julio de 2006;114(1_supplement). Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.000273>
43. Zhang X, Chen X, Hong H, Hu R, Liu J, Liu C. Decellularized extracellular matrix scaffolds: Recent trends and emerging strategies in tissue engineering. *Bioact Mater* [Internet]. abril de 2022;10:15-31. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X2100431X>
44. Barbulescu GI, Bojin FM, Ordodi VL, Goje ID, Barbulescu AS, Paunescu V. Decellularized Extracellular Matrix Scaffolds for Cardiovascular Tissue Engineering: Current Techniques and Challenges. *Int J Mol Sci* [Internet]. 27 de octubre de 2022;23(21):13040. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/21/13040>
45. Bejleri D, Davis ME. Decellularized Extracellular Matrix Materials for Cardiac Repair and Regeneration. *Adv Healthc Mater* [Internet]. marzo de 2019;8(5):1801217. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.201801217>
46. Sarig U, Sarig H, De-Berardinis E, Chaw SY, Nguyen EBV, Ramanujam VS, et al. Natural myocardial ECM patch drives cardiac progenitor based restoration even after scarring. *Acta Biomater* [Internet]. octubre de 2016;44:209-20. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706116304275>
47. D'Amore A, Yoshizumi T, Luketich SK, Wolf MT, Gu X, Cammarata M, et al. Bi-layered polyurethane – Extracellular matrix cardiac patch improves ischemic ventricular wall remodeling in a rat model. *Biomaterials* [Internet]. noviembre de 2016;107:1-14.

Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961216303763>

48. Wassenaar JW, Gaetani R, Garcia JJ, Braden RL, Luo CG, Huang D, et al. Evidence for Mechanisms Underlying the Functional Benefits of a Myocardial Matrix Hydrogel for Post-MI Treatment. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. marzo de 2016;67(9):1074-86. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109716000139>
49. Chen WCW, Wang Z, Missinato MA, Park DW, Long DW, Liu HJ, et al. Decellularized zebrafish cardiac extracellular matrix induces mammalian heart regeneration. *Sci Adv* [Internet]. 4 de noviembre de 2016;2(11). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.1600844>
50. Seif-Naraghi SB, Singelyn JM, Salvatore MA, Osborn KG, Wang JJ, Sampat U, et al. Safety and Efficacy of an Injectable Extracellular Matrix Hydrogel for Treating Myocardial Infarction. *Sci Transl Med* [Internet]. 20 de febrero de 2013;5(173). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3005503>
51. Mewhort HEM, Turnbull JD, Satriano A, Chow K, Flewitt JA, Andrei AC, et al. Epicardial infarct repair with bioinductive extracellular matrix promotes vasculogenesis and myocardial recovery. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. mayo de 2016;35(5):661-70. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053249816000590>
52. Scully BB, Fan C, Grigoryan B, Jacot JG, Vick GW, Kim JJ, et al. Remodeling of ECM patch into functional myocardium in an ovine model: A pilot study. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* [Internet]. noviembre de 2016;104(8):1713-20. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.33484>
53. Avery RJ, Yu SK, Cherukuri G, Runyan RB, Konhilas J, Khalpey ZI. Remodeling Failing Human Myocardium With Hybrid Cell/Matrix and Transmyocardial Revascularization. *ASAIO J* [Internet]. septiembre de 2018;64(5):e130-3. Disponible en: <https://journals.lww.com/00002480-201809000-00027>
54. Ferng A, Connell A, Nunez M, Johnson K, Braunhut B, Lick S, et al. Cardiac Regeneration in the Human Left Ventricle After CorMatrix Implantation. *Ann Thorac Surg* [Internet]. septiembre de 2017;104(3):e239-41. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003497517304587>
55. Wang Z, Wang L, Li T, Liu S, Guo B, Huang W, et al. 3D bioprinting in cardiac tissue engineering. *Theranostics* [Internet]. 2021;11(16):7948-69. Disponible en: <https://www.thno.org/v11p7948.htm>
56. Alonzo M, Anilkumar S, Roman B, Tasnim N, Joddar B. 3D Bioprinting of cardiac tissue and cardiac stem cell therapy. *Transl Res* [Internet]. septiembre de 2019;211:64-83. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1931524419300787>
57. What are the types of 3D bioprinting technologies? [Internet]. [citado 22 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://facellitate.com/what-are-the-types-of-3d-bioprinting-technologies/>
58. Jang J, Park HJ, Kim SW, Kim H, Park JY, Na SJ, et al. 3D printed complex tissue construct using stem cell-laden decellularized extracellular matrix bioinks for cardiac repair. *Biomaterials* [Internet]. enero de 2017;112:264-74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961216305695>
59. Bejleri D, Streeter BW, Nachlas ALY, Brown ME, Gaetani R, Christman KL, et al. A Bioprinted Cardiac Patch Composed of Cardiac-Specific Extracellular Matrix and

- Progenitor Cells for Heart Repair. *Adv Healthc Mater* [Internet]. 31 de diciembre de 2018;7(23):1800672. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.201800672>
60. Maiullari F, Costantini M, Milan M, Pace V, Chirivì M, Maiullari S, et al. A multi-cellular 3D bioprinting approach for vascularized heart tissue engineering based on HUVECs and iPSC-derived cardiomyocytes. *Sci Rep* [Internet]. 10 de septiembre de 2018;8(1):13532. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-31848-x>
 61. Izadifar M, Babyn P, Kelly ME, Chapman D, Chen X. Bioprinting Pattern-Dependent Electrical/Mechanical Behavior of Cardiac Alginate Implants: Characterization and Ex Vivo Phase-Contrast Microtomography Assessment. *Tissue Eng Part C Methods* [Internet]. septiembre de 2017;23(9):548-64. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.tec.2017.0222>
 62. Lee A, Hudson AR, Shiwarski DJ, Tashman JW, Hinton TJ, Yerneni S, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart. *Science* (80-) [Internet]. 2 de agosto de 2019;365(6452):482-7. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aav9051>
 63. Zhou G, Jiang H, Yin Z, Liu Y, Zhang Q, Zhang C, et al. In Vitro Regeneration of Patient-specific Ear-shaped Cartilage and Its First Clinical Application for Auricular Reconstruction. *EBioMedicine* [Internet]. febrero de 2018;28:287-302. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352396418300161>
 64. Zopf DA, Hollister SJ, Nelson ME, Ohye RG, Green GE. Bioresorbable Airway Splint Created with a Three-Dimensional Printer. *N Engl J Med* [Internet]. 23 de mayo de 2013;368(21):2043-5. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc1206319>
 65. Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials* [Internet]. enero de 2016;76:321-43. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961215008868>
 66. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, Grandi F, Macchi V, De Caro R. Tissue-Engineered Grafts from Human Decellularized Extracellular Matrices: A Systematic Review and Future Perspectives. *Int J Mol Sci* [Internet]. 18 de diciembre de 2018;19(12):4117. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/12/4117>

ANEXO: INGENIERÍA DE TEJIDOS EN OTROS TEJIDOS

VEJIGA

En un estudio, Sievert y colaboradores compararon la capacidad de regeneración in vivo de matrices vesicales acelulares homólogas (caninas) y heterólogas (humanas y monos) implantadas en perros tras una cistectomía parcial. Siete meses después de la cirugía, los animales implantados mostraron mayor capacidad vesical que los no tratados, independientemente del origen del injerto. En el examen histológico se observó que el tejido homólogo injertado se regeneraba mejor, con una colonización más rápida y completa del andamio por parte del músculo liso. La matriz heteróloga no provocó ninguna reacción de rechazo, asegurando la epitelización interna completa y la angiogénesis del injerto⁶⁶.

CÓRNEA

Los andamios corneales acelulares han sido repoblados exitosamente con diversas células. Se ha constatado en múltiples estudios la seguridad y biocompatibilidad de andamios descelularizados en la implantación de neocórneas en un estroma de conejo, así como los trasplantes de la membrana de Descemet descelularizada.

Recientemente, se evaluaron la seguridad y eficacia del trasplante de córnea humana descelularizada para la recuperación del grosor de los ojos con queratocono avanzado en un ensayo clínico de fase 1. Seis meses tras el implante, todos los pacientes presentaron una mejoría general de todos los parámetros visuales⁶⁶.

HÍGADO

Un gran número de estudios demostraron que los andamios de ECM acelular pueden proporcionar un hábitat ideal para la proliferación de diferentes tipos de células. Óptima para el crecimiento de diferentes tipos de células.

Tras la siembra de células madre pluripotenciales inducidas en andamios de matriz de hígado descelularizados, se observó que dichas células adquirieron propiedades hepáticas específicas de hepatocitos humanos neonatales⁶⁶.